Bioanalizzatore Agilent 2100

Guida dell'utente di 2100 Expert

Edizione Marzo 2004





Agilent Technologies

Informazioni legali

© Agilent Technologies, Inc. 2000-2004

Nessuna parte di questo manuale può essere riprodotta in alcun formato o con alcun mezzo (inclusa l'archiviazione e la scansione elettroniche o la traduzione in una lingua straniera) senza previo consenso scritto di Agilent Technologies, Inc., secondo le disposizioni di legge sul diritto d'autore degli Stati Uniti, internazionali e locali applicabili.

Codice del manuale: G2946-94002

Edizione: marzo 2004

Agilent Technologies, Deutschland GmbH
Hewlett-Packard-Strasse 8
76337 Waldbronn

Adobe e Acrobat sono marchi registrati negli Stati Uniti della Adobe Systems Incorporated.

Microsoft® e Windows® sono marchi registrati negli Stati Uniti di Microsoft Corporation.

Caliper®, LabChip ed il logo LabChip sono marchi registrati di proprietà di Caliper Technologies Corp. negli Stati Uniti ed in altri paesi.

Licenze tecnologia

I componenti hardware e/o software descritti in questo documento vengono forniti con licenza e possono essere utilizzati o copiati solo in conformità ai termini di tale licenza.

Garanzia

Le informazioni contenute in questo documento sono fornite allo stato corrente e sono soggette a modifiche senza preavviso nelle edizioni future. Agilent non rilascia alcuna altra garanzia, esplicita o implicita, comprese le garanzie implicite di commerciabilità ed idoneità ad uno uso specifico, relativamente al presente manuale e alle informazioni in esso contenute. Salvo il caso di dolo o colpa grave, Agilent non sarà responsabile di errori o danni diretti o indiretti relativi alla fornitura o all'uso di questo documento o delle informazioni in esso contenute. In caso di separato accordo scritto tra Agilent e l'utente con diverse condizioni di garanzia relativamente al contenuto di questo documento in conflitto con le condizioni qui riportate prevarranno le condizioni dell'accordo separato.

Limitazione dei diritti sul software

Qualora utilizzato in esecuzione di un contratto o subcontratto con un ente statunitense, il software è consegnato in licenza quale "software per uso commerciale" come definito nel DFAR 252.227-7014 (Giugno 1995) o come "prodotto commerciale" in conformità con quanto specificato nel documento FAR 2.101(a) oppure come "software per uso limitato" in conformità a quanto definito nel documento FAR 52.227-19 (Giugno 1987) o in qualsiasi altra norma o clausola di contratto equivalente. L'uso, la duplicazione o la divulgazione del software è soggetta ai termini della licenza commerciale standard di Agilent; enti ed agenzie non-DOD del governo degli Stati Uniti avranno solo dei Diritti Ristretti come difiniti nel FAR 52.227-19(c)(1-2) (Giugno 1987). Gli utenti degli Stati Uniti avranno solo i Diritti Limitati definiti nel FAR 52.227-14 (Giugno 1987) o DFAR 252.227-7015 (b)(2) (Novembre 1995), come per qualsiasi dato tecnico.

Sommario

Informazioni sulla Guida 6

Contenuto della Guida 7

Documenti correlati 9

Le novità di 2100 Expert 11

Come utilizzare la Guida 13

Guida rapida all'uso 17

Panoramica di 2100 Expert 33

Avvio di 2100 Expert 34

Area di lavoro di 2100 Expert 35

Esecuzione di un'analisi demo 44

Uscita da 2100 Expert 50

Come passare dall'analisi elettroforetica all'analisi citometrica a flusso e viceversa 52

Come preparare il bioanalizzatore per l'analisi elettroforetica 54

Come preparare il bioanalizzatore per l'analisi citometrica a flusso 57

Esecuzione e valutazione di un'analisi elettroforetica 61

Principi dell'analisi su chip di acido nucleico e proteina 62

Preparazione ed esecuzione di un'analisi elettroforetica 67

Analisi e valutazione dei risultati di un'analisi elettroforetica 104
Result Flagging (Evidenziazione dei risultati) 179
Esecuzione e valutazione di un'analisi citometrica a flusso 192
Principi delle misurazioni citometriche a flusso 193
Panoramica dell'analisi citometrica a flusso 202
Preparazione ed esecuzione di un'analisi citometrica a flusso 206
Analisi e valutazione dei risultati di un'analisi citometrica a flusso 237
Lavorare con i dati di chip e analisi 290
Panoramica dei dati di 2100 Expert 291
Gestione delle analisi 294
Gestione dei dati del chip 300
Organizzazione, recupero e backup dei dati di 2100 Expert 302
Importazione dei dati 304
Esportazione dei dati 311
Stampa dei report 323
Configurazioni tabelle 330
Lettura dei registri 337
Configurazione di 2100 Expert 344
Come specificare i nomi e le directory dei file di dati 345
Come impostare un segnale di avviso acustico 348

Come specificare le impostazioni grafiche 350
Come utilizzare le impostazioni avanzate 352
Esecuzione della diagnostica dello strumento 356
Come effettuare i test diagnostici dello strumento 361
Esecuzione delle qualificazioni 365
Riferimenti software di 2100 Expert 374
Elementi della finestra dell'applicazione 2100 Expert 375
Finestre di dialogo 580
Collegamenti ed azioni del mouse 660
Prodotti, parti di ricambio ed accessori 669
Glossario 673

Informazioni sulla Guida

Il Manuale per gli utenti del software Agilent 2100 expert. Fornisce agli utenti esperti e non le informazioni necessarie per eseguire analisi elettroforetiche e citometriche a flusso con il bioanalizzatore.

Il software consente di gestire il bioanalizzatore (2100 expert con le relative funzioni diagnostiche) nonché di acquisire, interpretare e presentare i risultati delle analisi di DNA, RNA, proteine e cellule se utilizzato con un kit LabChip.

Contenuto della Guida

Questa Guida fornisce agli utilizzatori del bioanalizzatore le seguenti informazioni:

- "Informazioni sulla Guida" a pagina 6 contiene una panoramica degli argomenti trattati nella Guida ed elenca le principali novità e funzioni innovative del software. 2100 expert Questa sezione fornisce anche un elenco di altre pubblicazioni e spiega come utilizzare lo strumento in modo ottimale.
- "Guida rapida all'uso" a pagina 17 contiene argomenti destinati agli utilizzatori esperti. Questa sezione riassume brevemente i passaggi necessari per preparare ed eseguire un'analisi.
- "Panoramica di 2100 Expert" a pagina 33 illustra le caratteristiche principali del software 2100 expert e descrive a grandi linee le più importanti funzioni operative.
- "Come passare dall'analisi elettroforetica all'analisi citometrica a flusso e viceversa" a pagina 52 spiega come sostituire le cartucce; un'operazione indispensabile per passare dall'analisi elettroforetica a quella citometrica a flusso e viceversa.
- "Esecuzione e valutazione di un'analisi elettroforetica" a pagina 61 spiega come utilizzare il bionalizzatore per le analisi elettroforetiche, fornisce una descrizione dettagliata di tutti i passaggi necessari per eseguire un'analisi elettroforetica e mostra come analizzare e valutare i risultati delle analisi mediante elettroferogrammi ed immagini gel-simili analoghe.
- "Esecuzione e valutazione di un'analisi citometrica a flusso" a pagina 192 spiega come utilizzare il bioanalizzatore per le analisi citometriche a flusso, fornisce una descrizione dettagliata di tutti i passaggi necessari per eseguire le analisi citometriche e mostra come analizzare e valutare i risultati delle analisi mediante istogrammi e dot-plot.

- "Lavorare con i dati di chip e analisi" a pagina 290 spiega come aprire, salvare, importare ed esportare i file nonché come stampare i risultati delle analisi.
- "Configurazione di 2100 Expert" a pagina 344 fornisce le linee guida per la configurazione del software 2100 expert.
- "Esecuzione della diagnostica dello strumento" a pagina 356 spiega come utilizzare i test diagnostici per controllare il corretto funzionamento dell'hardware del bioanalizzatore.
- "Esecuzione delle qualificazioni" a pagina 365 spiega come validare il sistema del bioanalizzatore.
- "Riferimenti software di 2100 Expert" a pagina 374 descrive tutti gli elementi dell'interfaccia utente del software 2100 expert; ad esempio le diverse aree del display, i menu, le barre degli strumenti e le finestre di dialogo.
- "Prodotti, parti di ricambio ed accessori" a pagina 669 elenca tutte le parti di ricambio e gli accessori, compresi i numeri di riordino, necessari per le analisi elettroforetiche e citometriche a flusso.
- "Glossario" a pagina 673 spiega la terminologia utilizzata nel contesto dell'analisi citometrica a flusso e dell'analisi elettroforetica e descrive i termini specifici dell'hardware e del software del bioanalizzatore.

Per eventuali domande su argomenti non trattati in questa Guida, consultare la letteratura supplementare elencata nella sezione "Documenti correlati" a pagina 9. Se non si riesce a trovare una risposta in nessuno dei documenti citati, è possibile anche richiedere l'assistenza degli esperti Agilent all'indirizzo:

http://www.agilent.com/chem/labonachip

Documenti correlati

Di seguito viene riportato un elenco di documenti supplementari

Manuali del bioanalizzatore

Numero di pubblicazione	Titolo
G2938-90006	Manuale per l'installazione e l'uso sicuro del Bionalizzatore Agilent 2100
G2946-90001	Guida alla manutenzione e alla risoluzione dei problemi del Bioanalizzatore Agilent 2100

CD-ROM

Numero di pubblicazione	Titolo
G2946-60002	Bioanalizzatore Agilent 2100 - Come utilizzare il CD-ROM multimediale

Guide per i kit di reagenti

Le *Guide per i kit di reagenti* forniscono informazioni sulla preparazione dei campioni.

Numero di pubblicazione	Titolo
G2938-90300	Raccolta di guide per i kit in inglese (comprende tutte le *Guide per i kit di reagenti*)
G2938-90010	Guida per i kit di reagenti per analisi DNA 500 e DNA 1000

Numero di pubblicazione	Titolo
G2938-90020	Guida per i kit di reagenti per analisi DNA 7500 e DNA 12000
G2938-90030	Guida per i kit di reagenti per analisi RNA 6000 Nano
G2938-90040	Guida per i kit di reagenti per analisi RNA 6000 Pico
G2938-90050	Guida per i kit di reagenti per analisi Protein 200 Plus
G2938-90060	Guida per i kit di reagenti per analisi Protein 50
G2938-90070	Guida per i kit di reagenti per analisi con cella a fluorescenza
G2938-90080	Guida per i kit di reagenti per analisi con cella a fluorescenza

Note applicative e note tecniche

Le *Note applicative* e le *Note tecniche* possono essere richieste al *Servizio assistenza del Bioanalizzatore Agilent 2100* oppure visitando la sezione "Lab-on-a-chip" della pagina Web di Agilent all'indirizzo:

http://www.agilent.com/chem/labonachip

Documentazione di recente pubblicazione

Questa sezione fornisce indicazioni su tutte le pubblicazioni più recenti:

http://www.chem.agilent.com/scripts/Library.asp

Le novità di 2100 Expert

Prodotti

2100 expert è il successore dei software *Bio Sizing* e *Cell Fluorescence*.

- *2100 expert* fornisce una piattaforma software singola con un'interfaccia utente comune per l'esecuzione, l'analisi, la valutazione, la presentazione ed il confronto dei parametri di DNA, RNA, proteine *e* cellule.
- *2100 expert* è facile da installare. Dopo l'installazione, le funzionalità per l'analisi elettroforetica e per l'analisi citometrica a flusso, possono essere attivate singolarmente tramite apposite chiavi di licenza.

Caratteristiche

2100 expert integra la funzionalità completa dei software *Bio Sizing* e *Cell Fluorescence* con ulteriori funzioni aggiuntive:

- *2100 expert* consente di tenere aperti contemporaneamente più file di dati e/o di analisi del chip.
- *2100 expert* consente di effettuare test di *qualificazione dell'installazione* (IQ) e di *qualificazione funzionale* (OQ) del software e dell'hardware del bioanalizzatore.
- *2100 expert* offre un nuovo strumento integrato per la valutazione dei dati (*Comparison)* che consente il confronto diretto dei risultati di analisi appartenenti alla stessa classe, anche se provenienti da chip diversi. Ciò elimina la necessità di utilizzare uno strumento di valutazione dei dati esterno.

- *2100 expert* presenta un'integrazione potenziata che comprende l'integrazione manuale (disponibile solo per i test DNA e proteine).
- *2100 expert* consente l'evidenziazione dei risultati con codici di colori diversi. Le regole di evidenziazione possono essere applicate ai risultati d'analisi.
- *2100 expert* dispone di tabelle dei risultati personalizzabili e di immagini gel-simile equivalenti.
- *2100 expert* offre funzioni potenziate per il controllo dello strumento. Il software è in grado di gestire due bioanalizzatori contemporaneamente. Conseguentemente è possibile effettuare analisi o test diagnostici su due bioanalizzatori *contemporaneamente*.
- *2100 expert* è dotato di funzioni di stampa e reporting potenziate.
- *2100 expert* è dotato di funzionalità diagnostiche dello strumento ampliate.

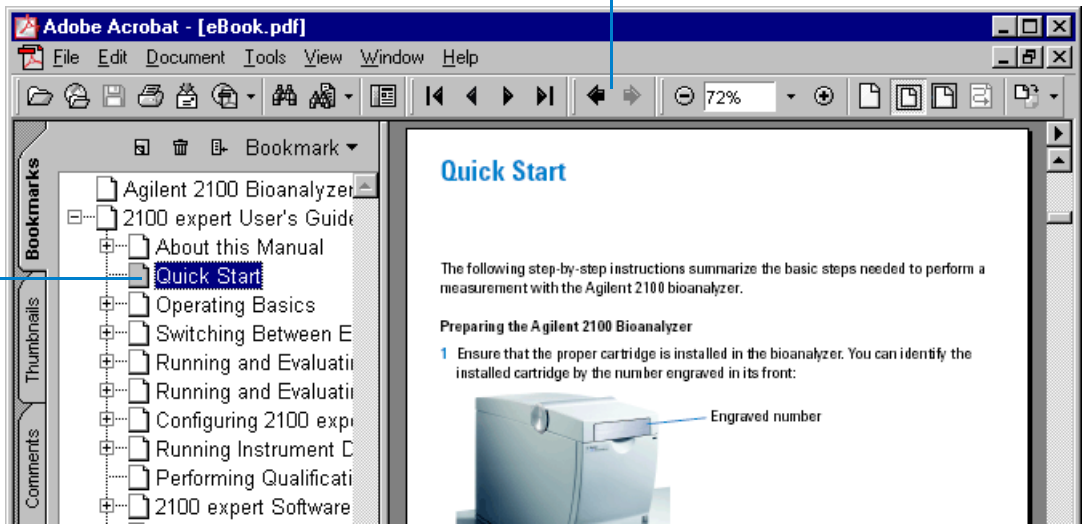
Come utilizzare la Guida

Questa Guida offre funzioni di navigazione online e utilizza convenzioni tipografiche specifiche.

Navigazione online

I segnalibri interattivi di questa casella consentono di visualizzare l'argomento desiderato.

La barra di navigazione di Acrobat Reader consente di spostarsi all'interno dell'argomento.


Adobe Acrobat - [eBook.pdf]
File Edit Document Tools View Window Help
72%
Bookmarks
Thumbnails
Comments
Bookmark
Agilent 2100 Bioanalyzer
2100 expert User's Guide
About this Manual
Quick Start
Operating Basics
Switching Between E
Running and Evaluati
Running and Evaluati
Configuring 2100 exp
Running Instrument D
Performing Qualificati
2100 expert Software
Quick Start
The following step-by-step instructions summarize the basic steps needed to perform a measurement with the Agilent 2100 bioanalyzer.
Preparing the Agilent 2100 Bioanalyzer
1 Ensure that the proper cartridge is installed in the bioanalyzer. You can identify the installed cartridge by the number engraved in its front:
Engraved number

Fare clic qui per passare all'indice.

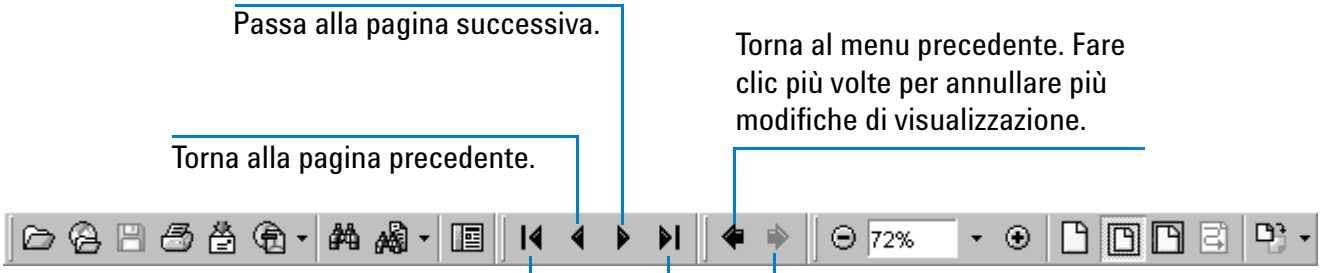
Fare clic qui per passare all'indice.

Rappresenta il numero della pagina correntemente selezionata.

▲ Torna alla pagina precedente.

▼ Passa alla pagina successiva.

Dopo aver scelto un argomento con i segnalibri, utilizzare i pulsanti della barra degli strumenti di Acrobat Reader per spostarsi all'interno dell'argomento.


Passa alla pagina successiva.
Torna al menu precedente. Fare clic più volte per annullare più modifiche di visualizzazione.
Torna alla pagina precedente.
72%
Visualizza la prima pagina.
Passa alla pagina successiva. Fare clic più volte per applicare più modifiche di visualizzazione.
Visualizza l'ultima pagina.

Convenzioni tipografiche

In questo manuale vengono utilizzate le seguenti convenzioni tipografiche.

Convenzione	Significato
Corsivo	Elemento visualizzato sullo schermo *Esempio*: ... il tasto *OK*.
	Enfatizzazione Esempio: fare clic con il pulsante *destro* ...
	Termine Esempio: i *dot plot* mostrano gli eventi sotto forma di punti.
	Riferimento ad un altro documento Esempio: vedere la *Guida alla manutenzione e risoluzione dei problemi del Bionalizzatore Agilent 2100.*
Blu	Riferimento incrociato o collegamento ipertestuale Esempi: "Le novità di 2100 Expert" a pagina 11 http://www.agilent.com/chem/labonachip
`Courier`	Codice Esempio: .. il parametro della linea di comando `-port 2` ...
`Courier grassetto`	Inserimento dell'utente Esempio: digitare **`50 MB`**.

Informazioni sulla sicurezza, note e suggerimenti

Le informazioni sulla sicurezza, le note ed i suggerimenti di questo documento devono essere intesi come specificato di seguito.

AVVISO

La presenza di un messaggio di avviso indica un pericolo. Questo simbolo richiama l'attenzione su una procedura operativa, operazione o altro che potrebbe provocare lesioni personali o mortali se non viene eseguita correttamente. Dopo la notifica di un messaggio di avviso, è consigliabile interrompere l'operazione fino ad aver identificato e risolto il problema.

ATTENZIONE

La presenza di un messaggio di attenzione indica un pericolo. Questo simbolo richiama l'attenzione su una procedura operativa, un'operazione o altro che potrebbe danneggiare lo strumento o provocare la perdita di dati importanti se non viene eseguita correttamente. Dopo la notifica di un messaggio di attenzione, è consigliabile interrompere l'operazione fino ad aver identificato e risolto il problema.

NOTA

Una nota contiene informazioni importanti, utili o aggiuntive.

SUGGERIMENTO

Un suggerimento indica una funzione che consente di risparmiare tempo.

Guida rapida all'uso

Le seguenti istruzioni dettagliate riassumono i passaggi base da eseguire per effettuare un'analisi con il Bionalizzatore Agilent 2100.

Preparazione del Bionalizzatore Agilent 2100

1 Verificare che nel bioanalizzatore sia installata la cartuccia corretta. La cartuccia installata può essere identificata in base al numero impresso sul lato anteriore.



Numero impresso

È utile ricordare che esistono anche cartucce ad elettrodo senza numero impresso.

① = Cartuccia ad elettrodo per analisi *elettroforetiche*
② = Cartuccia a pressione per analisi di *citometria a flusso*

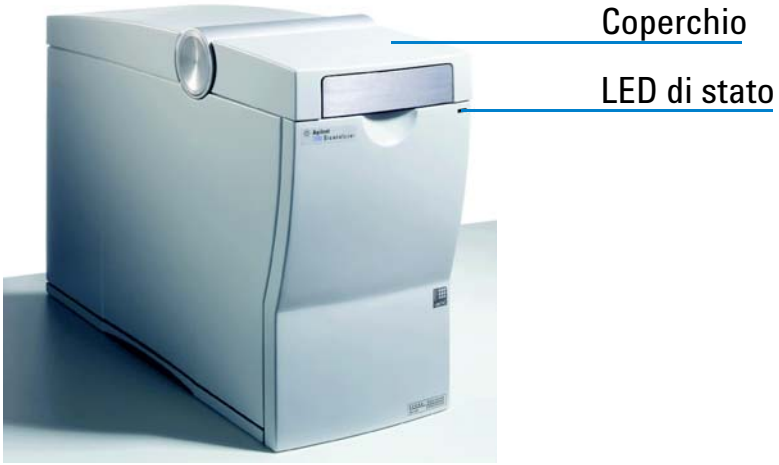
2 Per istruzioni su come sostituire la cartuccia, seguire le istruzioni riportate nella sezione "Come passare dall'analisi elettroforetica all'analisi citometrica a flusso e viceversa" a pagina 52.

Accensione del Bionalizzatore Agilent 2100

1 Verificare che il bioanalizzatore sia connesso alla rete di alimentazione ed al PC.

2 Spostare l'interruttore posto sul retro dello strumento in posizione di accensione.

Il LED di stato sul lato anteriore del bioanalizzatore deve accendersi.



Il LED di stato indica lo stato attuale dello strumento.

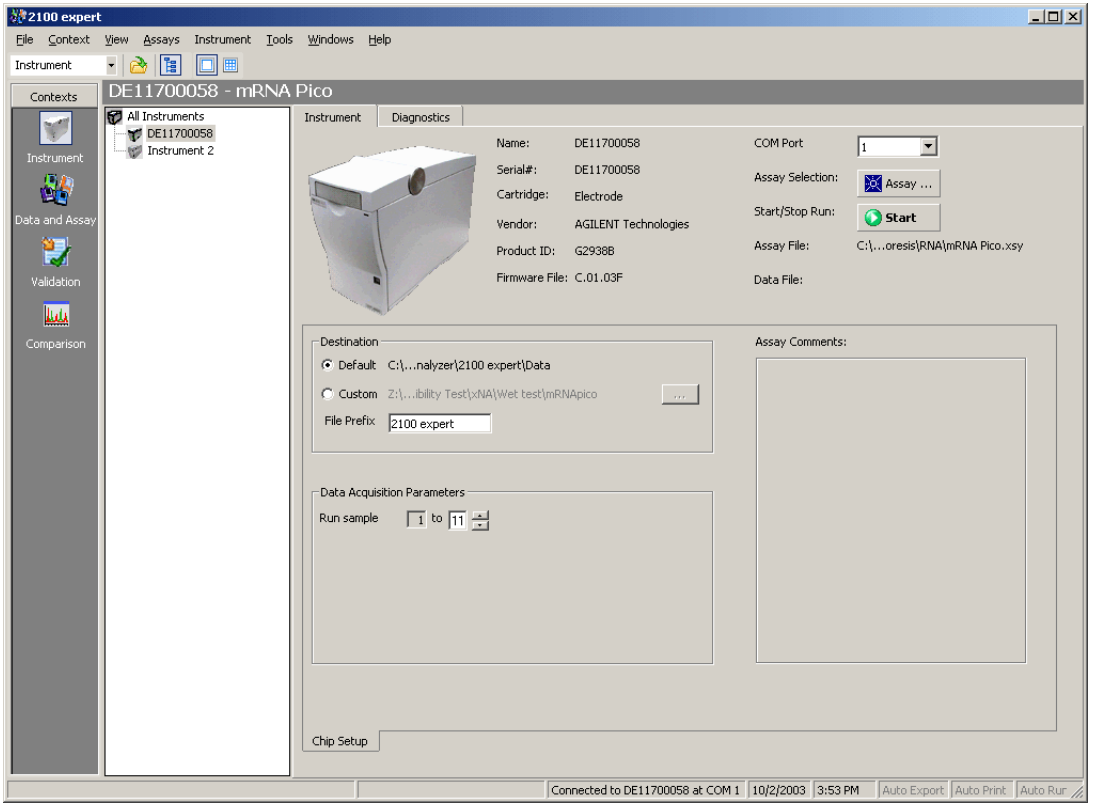
Segnale	Significato
Luce verde	Lo strumento è acceso e pronto per l'analisi.
Verde lampeggiante	Analisi in corso.
Arancio lampeggiante	Lo strumento è occupato (per esempio, sta eseguendo l'autodiagnostica).
Luce rossa	Lo strumento non è pronto per l'analisi. Spegnere lo strumento e riaccenderlo. Se il problema persiste, rivolgersi al Servizio di assistenza Agilent.

Esecuzione di un'analisi

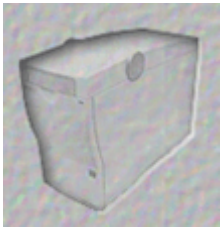
1 Per avviare il software 2100 expert sul PC connesso, fare doppio clic sulla seguente icona visualizzata sul desktop:



Dopo l'avvio del software, viene visualizzato il contesto *Instrument* (Strumento):



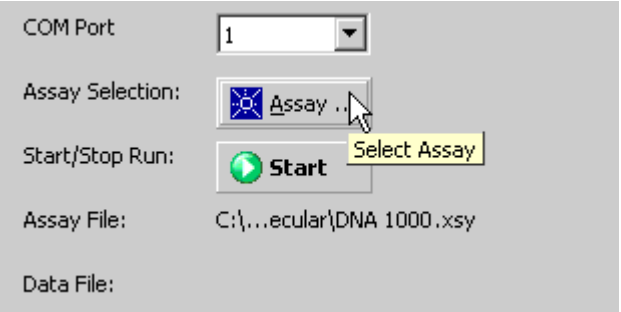
L'icona nell'angolo in alto a sinistra della scheda *Instrument* (Strumento) indica lo stato del bioanalizzatore:

Icone	Significato
	Bioanalizzatore rilevato, il coperchio è aperto.
	Bioanalizzatore rilevato. Il coperchio è chiuso, ma nessun chip è inserito.
	Il bioanalizzatore non è stato rilevato. Controllare l'impostazione dell'opzione *COM Port* (Porta COM) (vedere figura al punto 3), il cavo di connessione RS 232, il cavo di alimentazione e l'interruttore di accensione. Per informazioni sull'impostazione del bioanalizzatore e sulla sua connessione al PC, consultare la *Guida all'installazione e alla messa in sicurezza del Bionalizzatore Agilent 2100*.

2 Prima di continuare, verificare che il bioanalizzatore sia stato rilevato.

3 Selezionare un tipo di analisi per l'analisi del chip.

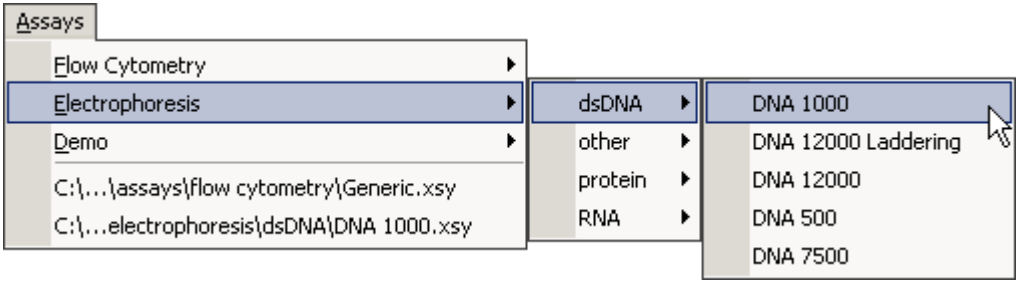
Nella scheda *Instrument* (Strumento), fare clic sul pulsante *Assay...* (Analisi).



– OPPURE –

Fare clic sul menu *Assays* (Analisi).

In entrambi i casi si apre il menu *Assays* (Analisi) che consente di selezionare un tipo di analisi dai sottomenu.



– OPPURE –

Selezionare *File* > *Open File to Run...*. (File > Apri file da eseguire). Viene visualizzata una finestra di dialogo che consente di caricare un'analisi (.xsy) oppure un file di dati del chip (.xad).

4 Preparare i campioni ed il chip.

Per informazioni dettagliate su come preparare il campione ed il chip, consultare:

– Le *Guide per i kit di reagenti* disponibili per ogni kit di reagenti .

– Le *Note applicative* disponibili per ogni analisi.

NOTA

Durante la preparazione di chip e campioni, prestare attenzione alle pratiche d'analisi essenziali descritte nelle sezioni "Pratiche d'analisi essenziali (Analisi elettroforetica)" a pagina 75 e "Pratiche d'analisi essenziali (Analisi citometrica a flusso)" a pagina 215.

---

5 Inserire il chip nel bionalizzatore Agilent 2100.

a Aprire il coperchio.

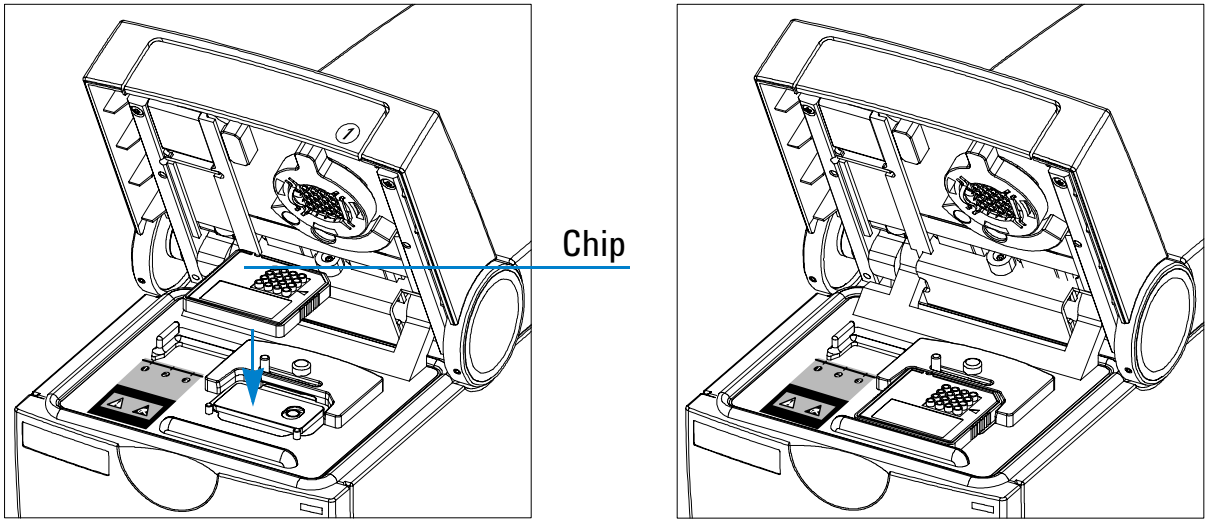
L'icona del bioanalizzatore assume la forma mostrata nella figura:



b Controllare che la cartuccia sia inserita correttamente e che il selettore del chip sia nella posizione corretta ("1" per analisi elettroforetica, "2" per analisi citometrica a flusso).

Per ulteriori informazioni, vedere la sezione “Come passare dall'analisi elettroforetica all'analisi citometrica a flusso e viceversa” a pagina 52.

c Inserire il chip nell'alloggiamento. La figura mostra questa operazione per un chip elettroforetico.



Il chip può essere inserito solo in una posizione. Non forzare per inserirlo.

ATTENZIONE

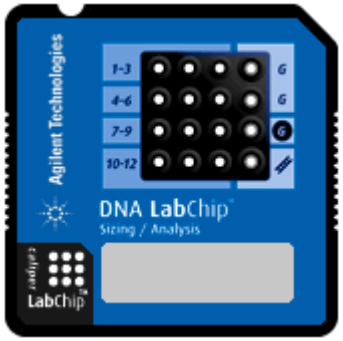
Non chiudere il coperchio con forza, per non danneggiare la cartuccia.

d Chiudere il coperchio con cautela.

Analisi elettroforetiche: gli elettrodi della cartuccia combaciano con i pozzetti del chip.

Analisi citometriche a flusso: l'adattatore con la guarnizione sulla cartuccia si adatta perfettamente al pozzetto della soluzione di priming sul chip.

L'icona del bioanalizzatore diventa l'icona di un chip (per esempio, l'icona di un chip per DNA):



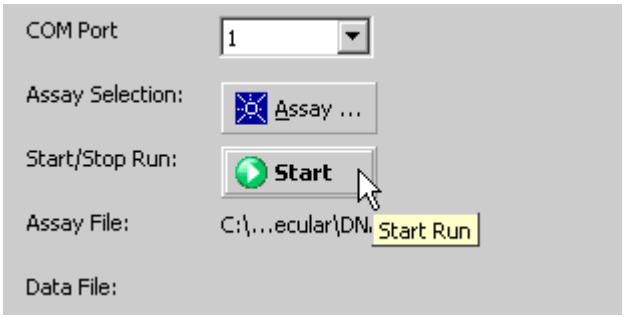
Se il chip non viene rilevato, aprire e richiudere il coperchio ancora una volta.

NOTA

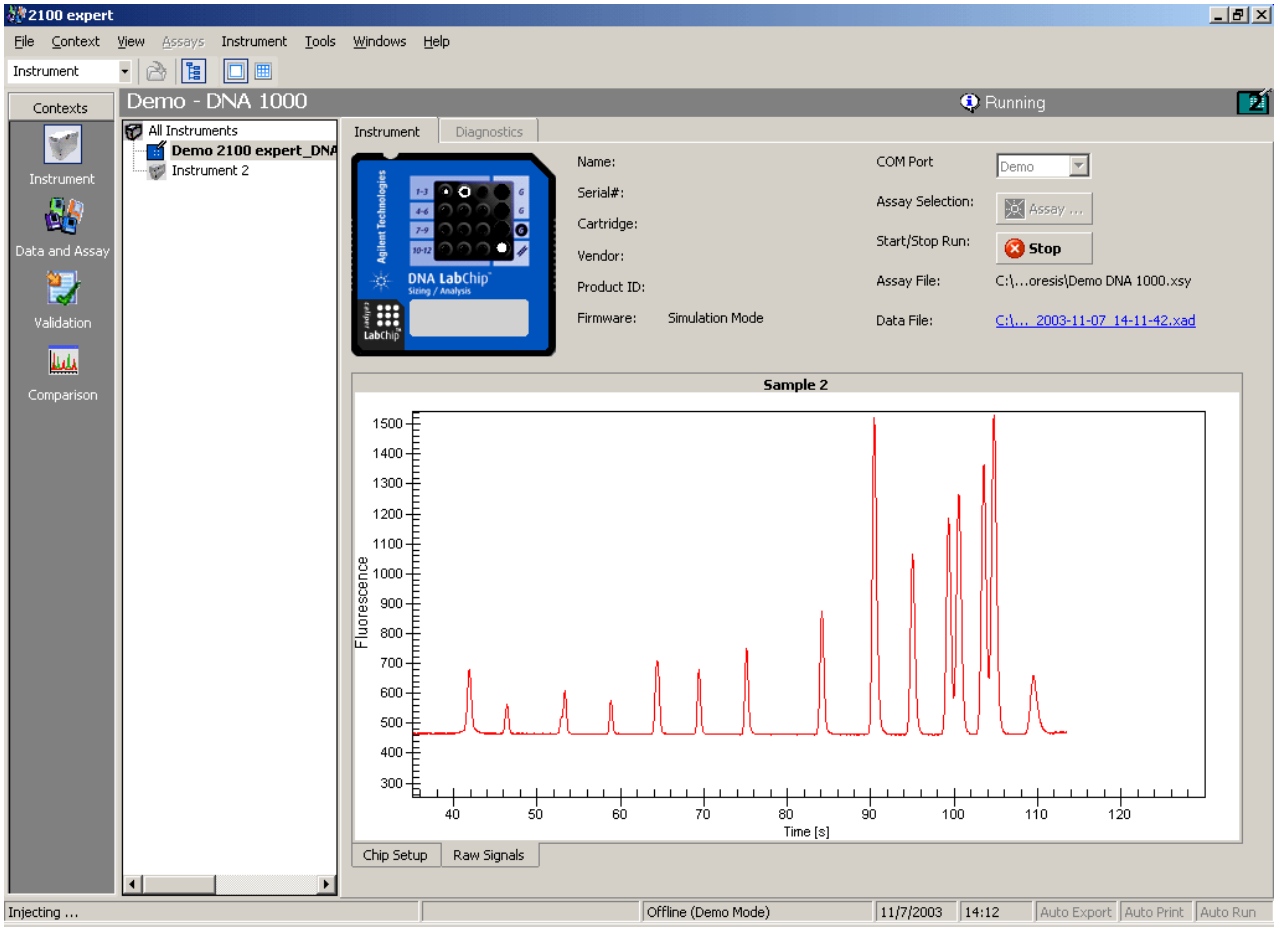
Se l'opzione *AutoRun* (Esecuzione automatica) è attiva (vedere la sezione "Options – Advanced (Opzioni – Avanzate)" a pagina 594), l'analisi del chip si avvia automaticamente dopo l'inserimento del chip e la chiusura del coperchio.

---

5 Nella scheda *Instrument* (Strumento), fare clic sul pulsante *Start* (Avvio).



L'analisi del chip si avvia. La sottocartella *Raw Signals* (Segnali grezzi) mostra l'elettroferogramma del campione attualmente analizzato. Sopra il grafico viene visualizzato il nome del campione analizzato in quel momento. Il grafico è una rappresentazione "in diretta" del tempo di migrazione rispetto alle unità fluorescenti (per esempio, dati grezzi comprendenti la fluorescenza di fondo).



Il numero del campione analizzato viene visualizzato sulla barra delle informazioni:

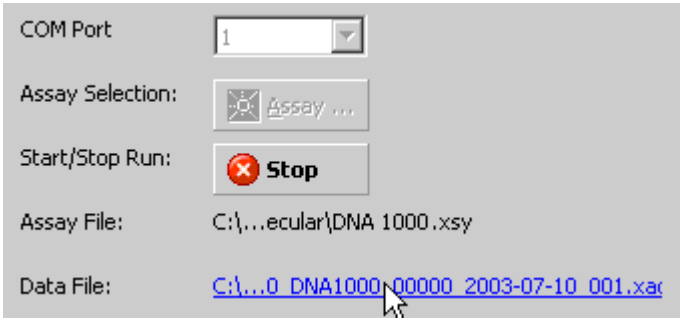


La barra di stato mostra il nome del campione analizzato, una barra di avanzamento mostra il grado di avanzamento del processo di analisi del campione attuale (non per tutta l'analisi del chip) ed il numero della porta COM utilizzata per l'acquisizione dei dati:



Durante l'analisi del chip, è possibile effettuare le seguenti operazioni:

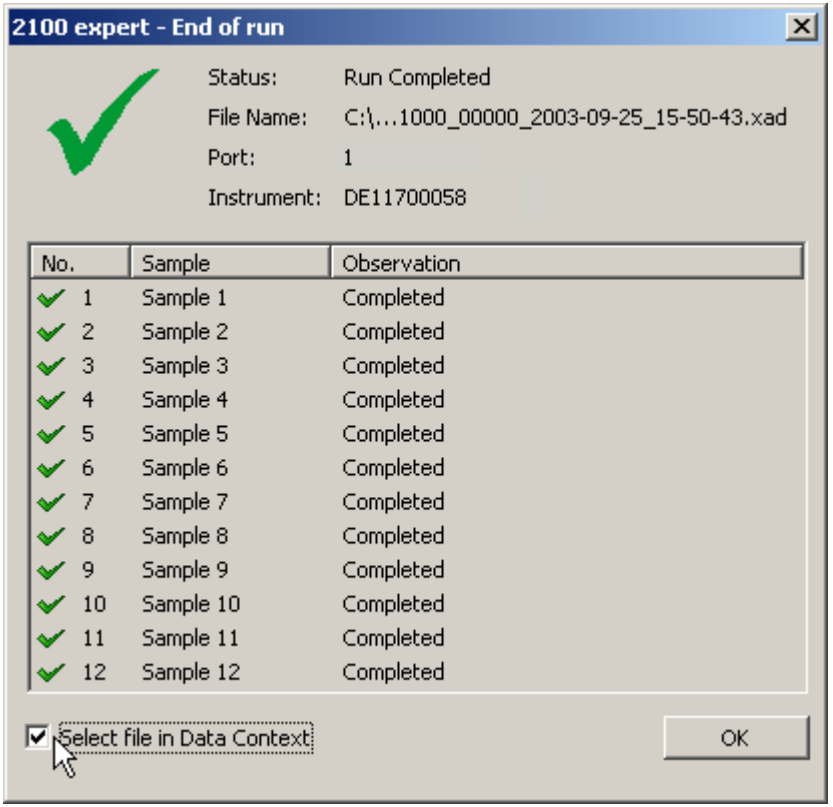
- Visualizzare il file di dati del chip nel contesto *Data and Assay* (Dati ed analisi) facendo clic sul nome del *Data File* (File di dati):



- Passare ad un altro contesto. Per esempio, è possibile valutare un file di dati del chip qualsiasi nel contesto *Data and Assay* (Dati ed analisi) oppure confrontare campioni nel contesto *Comparison* (Confronto).
- Se necessario, annullare l'analisi del chip facendo clic sul pulsante *Stop* (Interrompi). Tutti i dati raccolti fino al momento dell'interruzione dell'analisi vengono salvati.

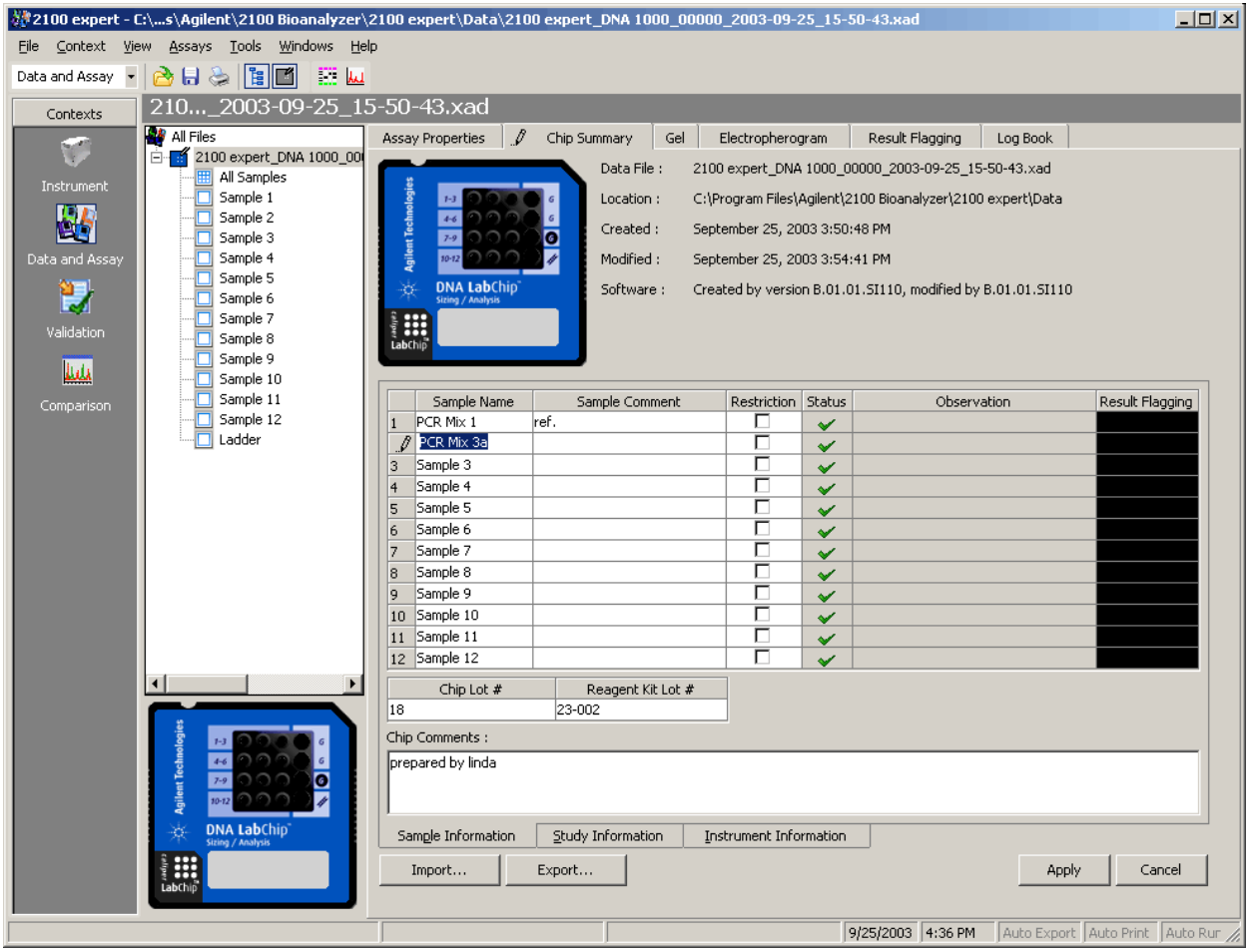
Terminare l'analisi

Al termine dell'analisi viene visualizzata la finestra di dialogo *End of run* (Fine dell'analisi), che mostra lo stato dell'analisi ed il nome del file in cui sono stati salvati i dati d'analisi del chip.



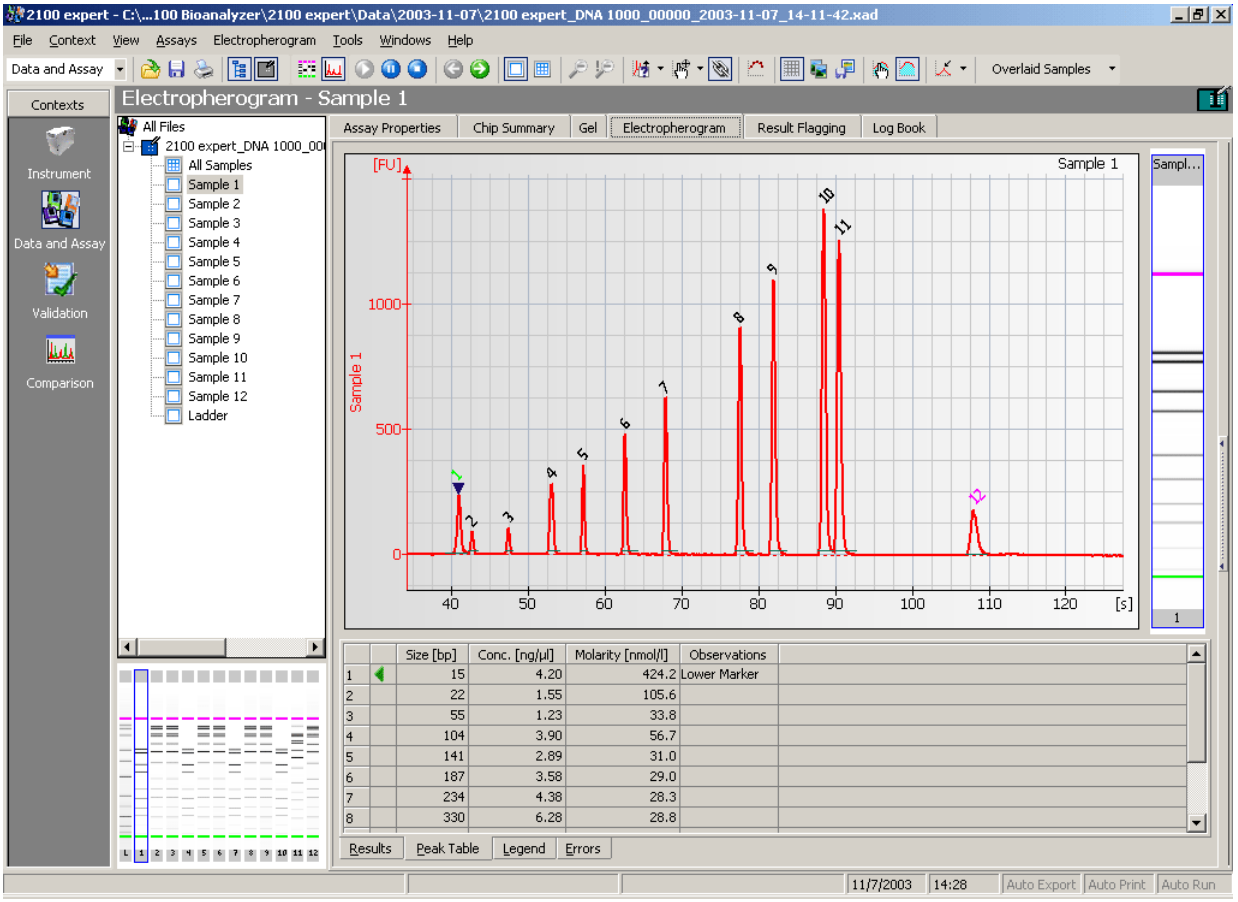
1 Per visualizzare immediatamente i risultati, selezionare la casella di controllo *Select file in Data Context* (Seleziona file nel contesto dati), quindi fare clic su *OK*.

Viene visualizzato il contesto *Data and Assay* (Dati e analisi), e viene selezionato il file di dati che è appena stato generato dall'analisi del chip. La scheda *Chip Summary* (Riassunto chip) riporta informazioni sul file di dati del chip e consente d'inserire commenti relativi a chip, campione e studio.



2 Sul pannello della struttura ad albero, fare clic sul nome di un campione o di uno standard.

Viene evidenziata la scheda *Electropherogram* (Elettroferogramma) che visualizza un data-plot del tempo di migrazione rispetto all'intensità della fluorescenza.



I picchi sono stati rilevati automaticamente e le loro caratteristiche come dimensione, concentrazione e molarità sono state calcolate e vengono riportate nella *Peak Table* (Tabella dei picchi) nella parte inferiore della finestra.

Cosa è possibile fare al termine dell'analisi

Al termine dell'analisi del chip, è possibile:

- Documentare l'analisi del chip inserendo per esempio, i nomi dei campioni, commenti sul chip e informazioni sullo studio.
- Valutare i risultati dell'analisi analizzando le immagini gel-simili e gli elettroferogrammi (analisi elettroforetiche) oppure gli istogrammi ed i dot-plot (analisi citometriche):
  - "Analisi e valutazione dei risultati di un'analisi elettroforetica" a pagina 104
  - "Analisi e valutazione dei risultati di un'analisi citometrica a flusso" a pagina 237
- Stampare i risultati per documentarli su carta.

  Vedere la sezione "Stampa dei report" a pagina 323.
- Esportare i risultati per ulteriori valutazioni in altre applicazioni.

  Vedere la sezione "Esportazione dei dati" a pagina 311.
- Confrontare i risultati con quelli di altre analisi del chip nel contesto *Comparison* (Confronto).
- Inserire il nuovo chip nel bioanalizzatore ed avviare una nuova analisi con un clic (purché si utilizzi la stessa analisi).

Panoramica di 2100 Expert

Prima di iniziare ad eseguire le analisi con il bioanalizzatore Agilent 2100, è necessario acquisire familiarità con il software 2100 expert:

- "Avvio di 2100 Expert" a pagina 34
- "Area di lavoro di 2100 Expert" a pagina 35
- "Esecuzione di un'analisi demo" a pagina 44
- "Uscita da 2100 Expert" a pagina 50

Avvio di 2100 Expert

Per avviare 2100 expert:

1 Sul desktop fare clic sulla seguente icona:



– OPPURE –

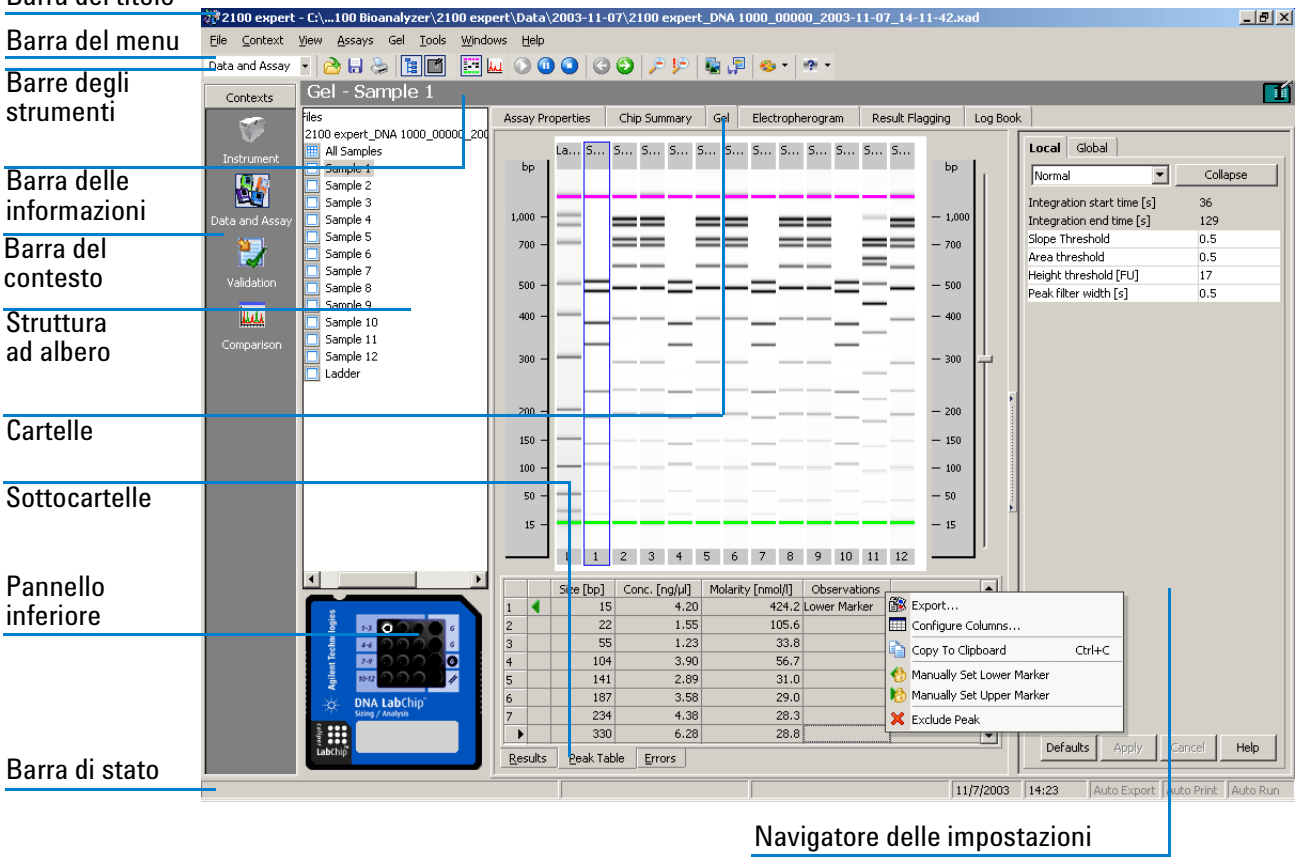
Dal menu *Start* di Windows, selezionare *Programmi* > *Agilent 2100 Bioanalyzer* > *2100 expert*.



Viene visualizzata la finestra dell'applicazione 2100 expert. La sezione “Area di lavoro di 2100 Expert” a pagina 35 fornisce una descrizione della finestra dell'applicazione.

Area di lavoro di 2100 Expert

L'area di lavoro di 2100 expert comprende elementi standard, quali menu a tendina e barre degli strumenti, oltre che l'area di lavoro principale che contiene numerose cartelle, alcune delle quali suddivise in sottocartelle. L'area di lavoro di 2100 expert comprende le seguenti aree di lavoro (contesto *Data and Assay* (Dati e analisi)):



Per informazioni dettagliate sulle varie aree, vedere la sezione “Elementi della finestra dell'applicazione 2100 Expert” a pagina 375.

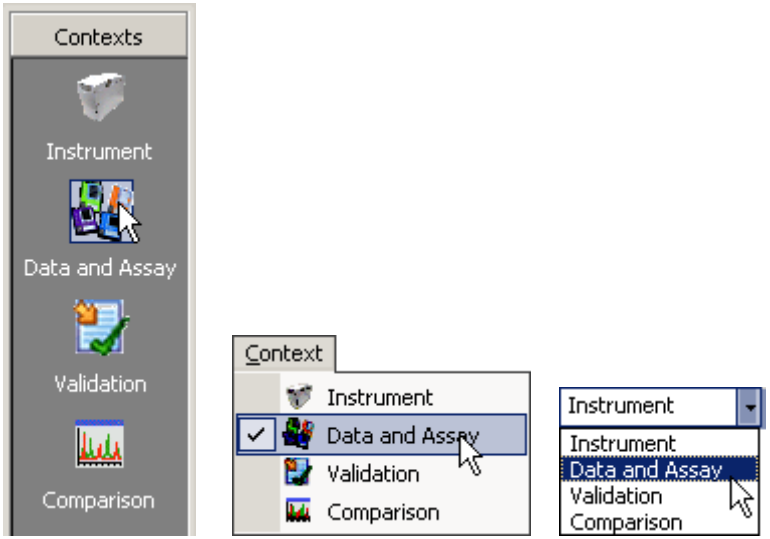
Il software 2100 expert può funzionare in quattro modalità chiamate "contesti".

- Contesto Instrument (Strumento)
- Contesto Data and Assay (Dati e analisi)
- Contesto Validation (Validazione)
- Contesto Comparison (Confronto)

NOTA

I contesti sono indipendenti uno dall'altro a livello di dati. Ciò significa, ad esempio, che è possibile rivedere i dati ed eseguire le misurazioni contemporaneamente.

La barra *Contexts* (Contesti), il menu *Context* o l'elenco a tendina sulla *barra degli strumenti* permettono di passare da un contesto all'altro.



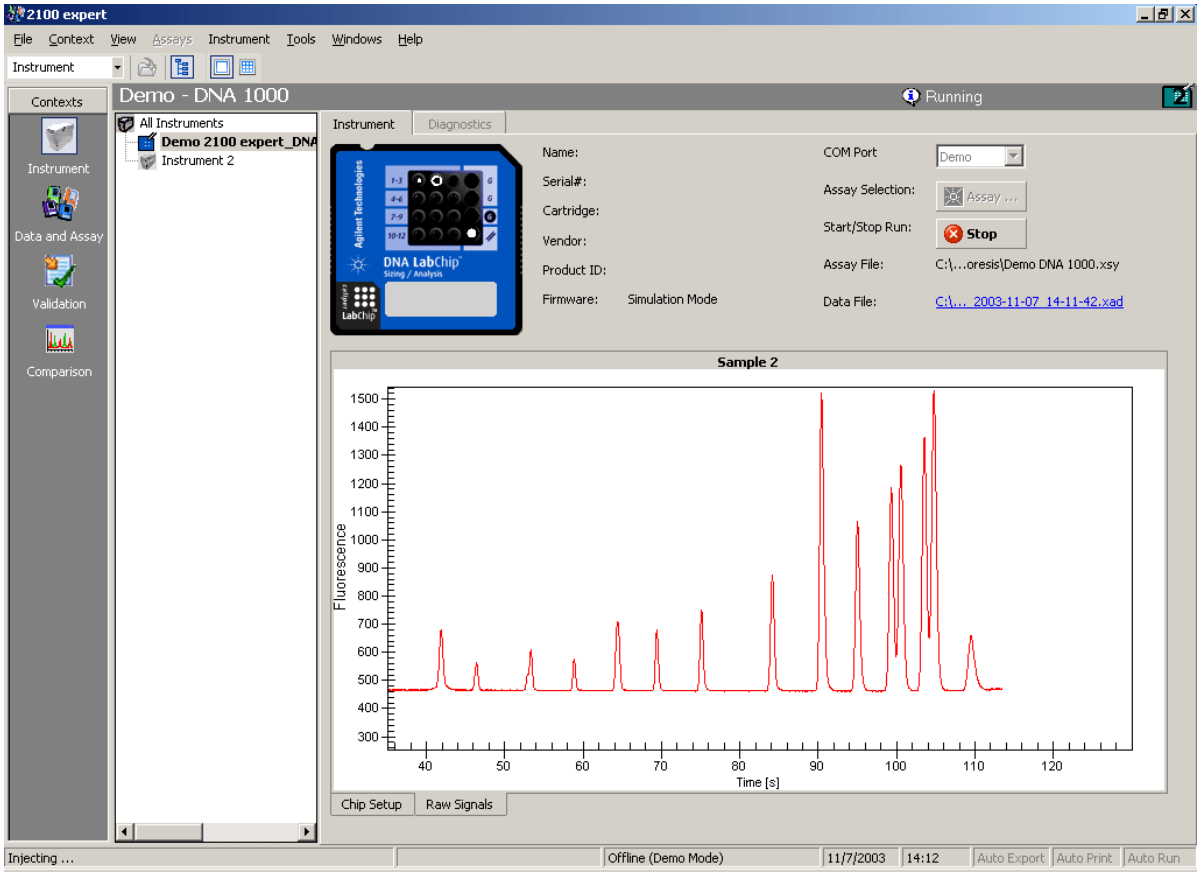
NOTA

I menu, le barre degli strumenti, la struttura ad albero e l'area di lavoro principale (cartelle) cambiano significativamente quando si passa da un contesto all'altro.

Di seguito viene riportata un'introduzione ai quattro diversi contesti.

Contesto Instrument (Strumento)

All'avvio, 2100 expert visualizza il contesto *Instrument* (Strumento), in cui è possibile eseguire le analisi di DNA, RNA, proteine o cellule selezionando un file d'analisi ed avviando l'analisi del chip, purché il bioanalizzatore sia connesso correttamente, che sia stato inserito un chip e che il coperchio del bioanalizzatore sia chiuso.



NOTA

Se due bioanalizzatori sono collegati al PC, è possibile utilizzarli in parallelo.

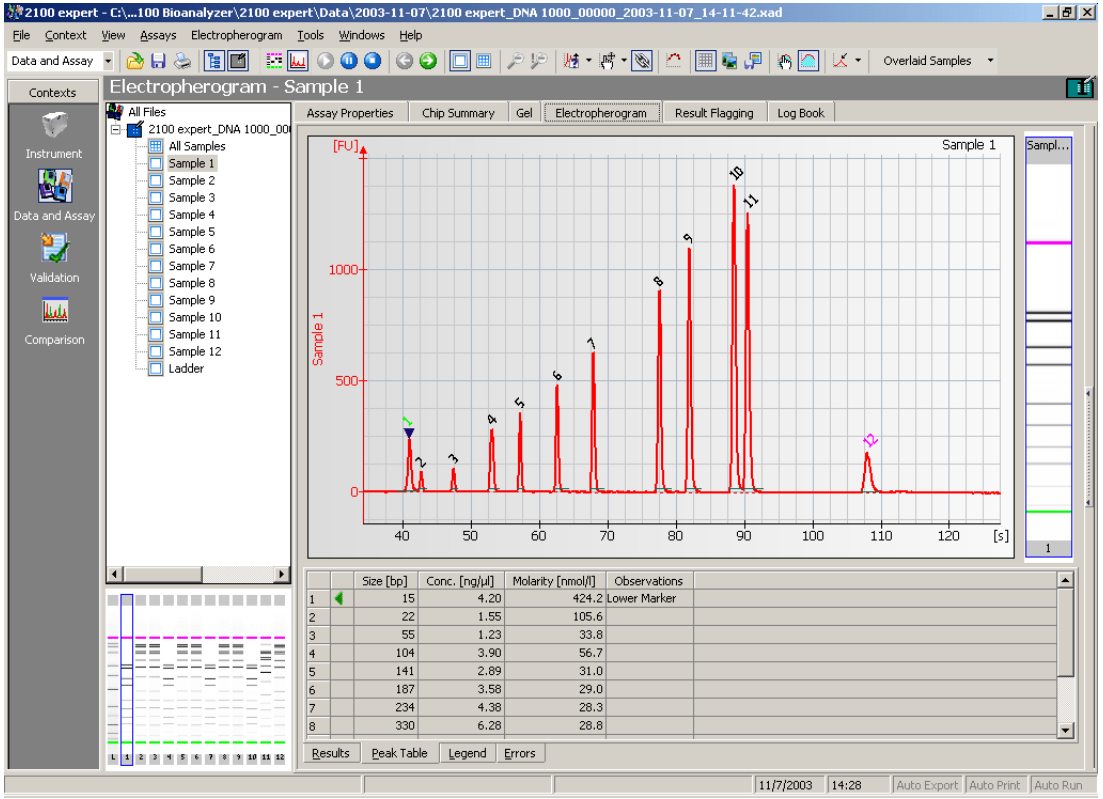
Durante l'analisi del/dei chip, è possibile visualizzare lo stato del bioanalizzatore: informazioni sullo strumento e dati d'acquisizione in tempo reale.

Nel contesto *Instrument* (Strumento), è anche possibile effettuare test diagnostici su tutti i bioanalizzatori connessi. Per ulteriori informazioni, vedere la sezione "Esecuzione della diagnostica dello strumento" a pagina 356.

Contesto Data and Assay (Dati e analisi)

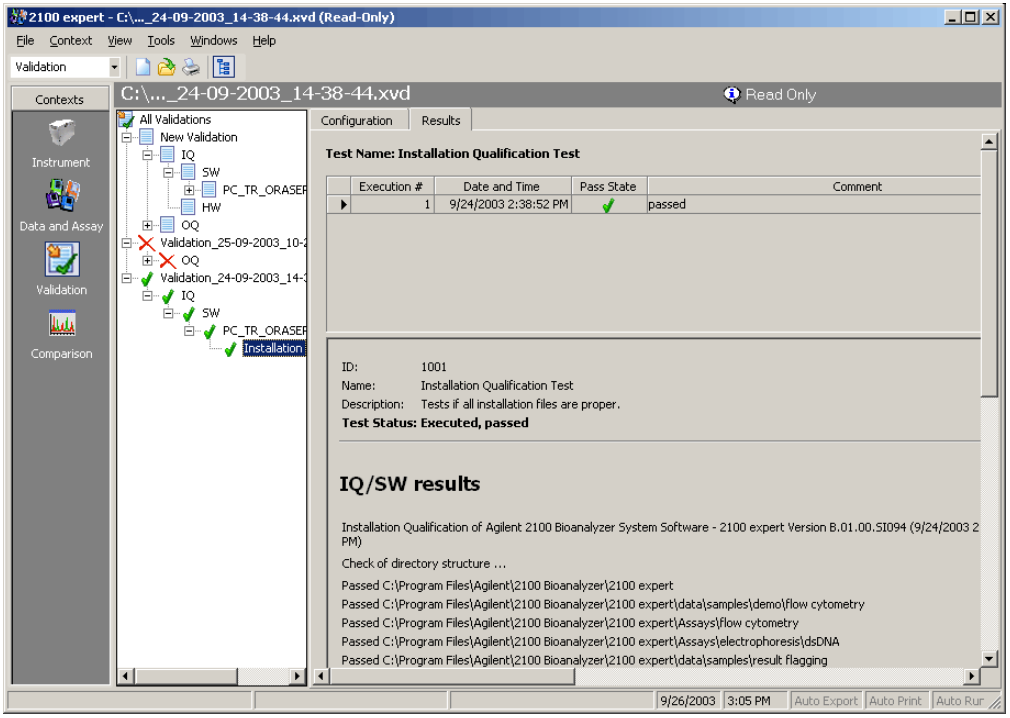
Nel contesto *Data and Assay* (Dati e analisi) è possibile:

- Visualizzare, analizzare e valutare i risultati dell'analisi del chip che vengono presentati come elettroferogrammi, immagini gel-simili, istogrammi, dot-plot e tabelle dei risultati.
- Esportare e stampare i risultati delle analisi del chip.
- Modificare le analisi esistenti e creare metodi di analisi personalizzati modificando proprietà come le impostazioni di analisi dei dati.



Contesto Validation (Validazione)

Il contesto *Validation* (Validazione) viene utilizzato per eseguire e documentare i test di qualificazione.



Per l'hardware ed il software del bioanalizzatore è possibile eseguire test di:

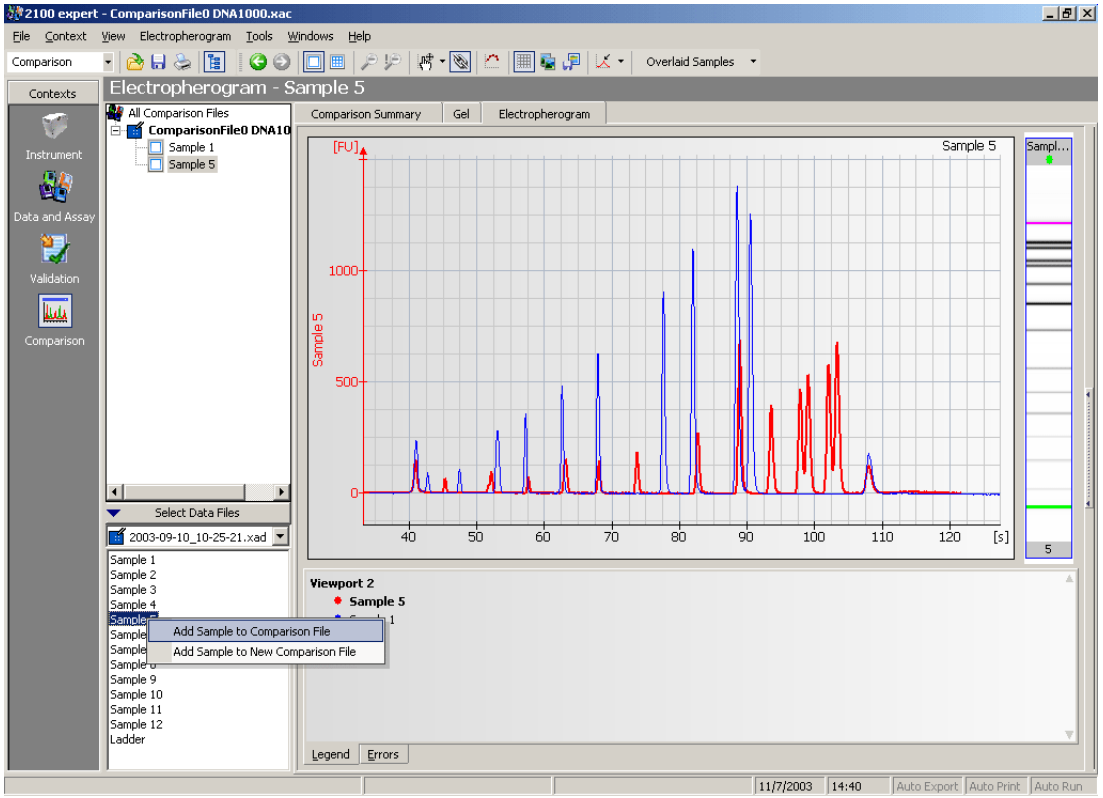
- Qualificazione dell'installazione (IQ)
- Qualificazione funzionale (OQ)

I risultati della validazione vengono salvati automaticamente in file.xvd. I file .xvd possono essere riaperti per rivedere i risultati della qualificazione.

Per ulteriori informazioni, vedere la sezione “Esecuzione delle qualificazioni” a pagina 365.

Contesto Comparison (Confronto)

Il contesto *Comparison* (Confronto) consente di aprire più file di dati del chip elettroforetico e di confrontare i campioni analizzati con lo stesso metodo (per esempio DNA 1000), anche nel caso in cui appartengano ad analisi diverse del chip. È possibile sovrapporre elettroferogrammi registrati dal bioanalizzatore e confrontare i risultati di analisi.



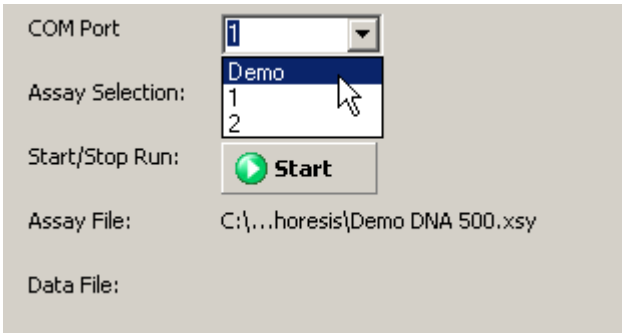
I risultati del confronto possono essere salvati in file .xac. I file .xac possono essere riaperti per rivedere i risultati del confronto e per aggiungere ulteriori campioni di confronto.

Esecuzione di un'analisi demo

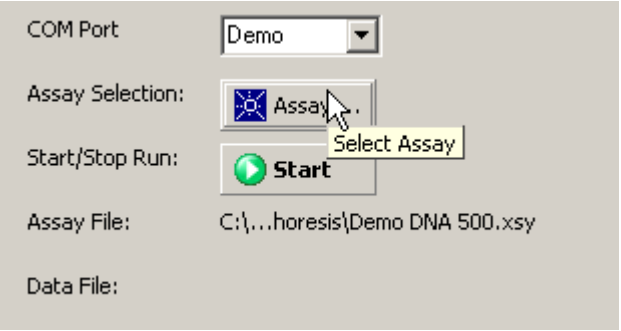
2100 expert fornisce analisi demo utilizzabili per comprendere i principi delle analisi del chip e della valutazione dei dati, anche se il bioanalizzatore è spento.

Per eseguire un'analisi demo:

1. Avviare il software seguendo le istruzioni riportate nella sezione "Avvio di 2100 Expert" a pagina 34, oppure, se il software è già in esecuzione, passare al contesto *Instrument* (Strumento).
2. Nella scheda *Instrument* (Strumento) selezionare "Demo" per l'opzione *COM Port* (Porta COM).

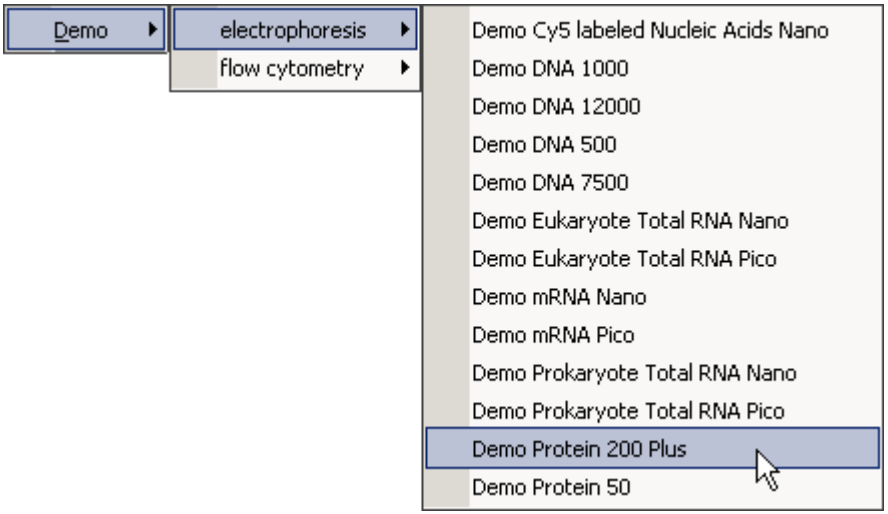


3 Fare clic su pulsante *Assay...* (Analisi).



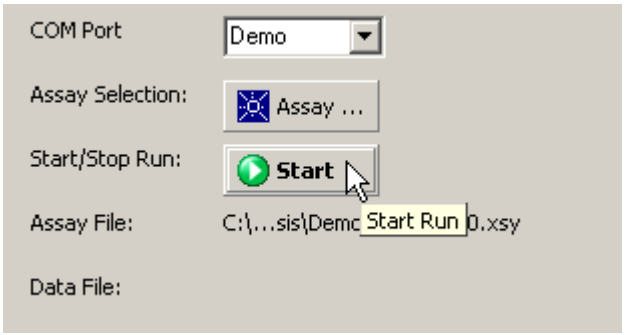
Viene aperto il menu, che consente di selezionare un'analisi da una serie di sottomenu.

4 Selezionare un'analisi demo, per esempio *Demo* > *electrophoresis* > *Demo Protein 200 Plus*.

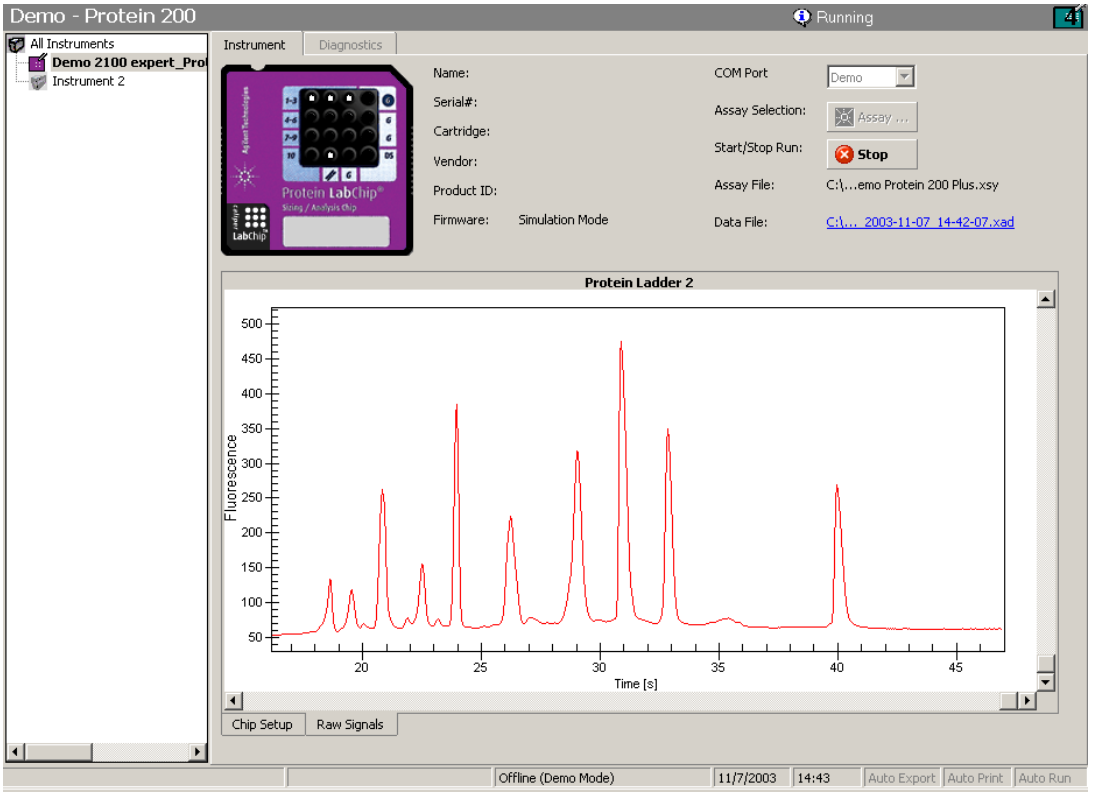


L'analisi viene caricata e viene visualizzata l'icona viola che identifica l'analisi “Protein”.

5 Fare clic sul pulsante *Start* (Avvio).



L'analisi demo del chip si avvia ed è possibile vederne l'avanzamento nella scheda *Raw Signals* (Segnali grezzi) che fornisce una simulazione dell'acquisizione dei dati.

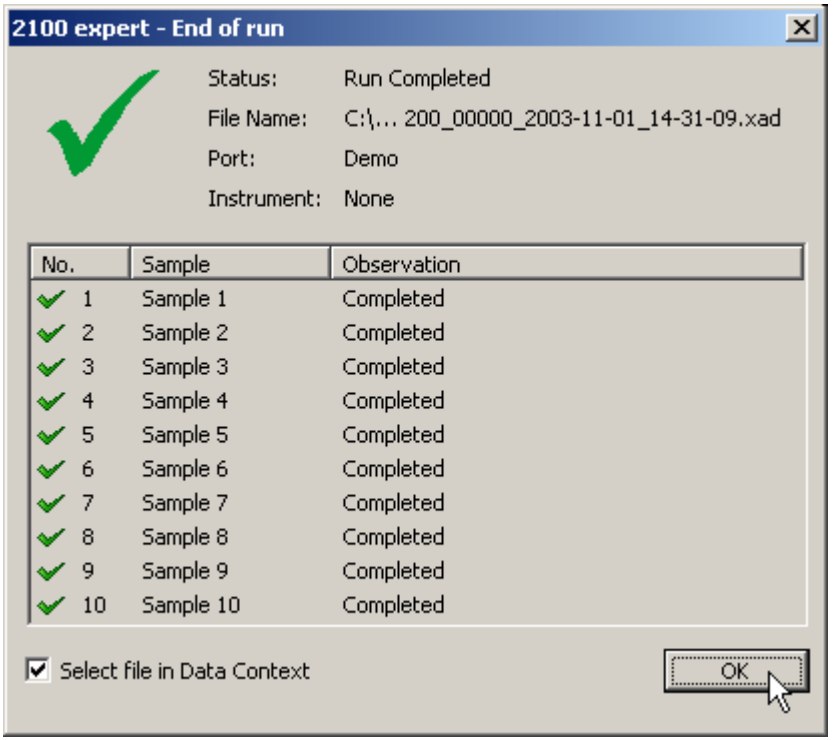


Per ulteriori informazioni sull'analisi del chip, vedere la sezione “Esecuzione di un'analisi elettroforetica” a pagina 81, o “Esecuzione di un'analisi citometrica a flusso” a pagina 220.

NOTA

Come per l'analisi reale di un chip, l'analisi demo crea un file di dati del chip (.xad).

Al termine della simulazione viene visualizzata la finestra di dialogo *End of run* (Fine analisi).



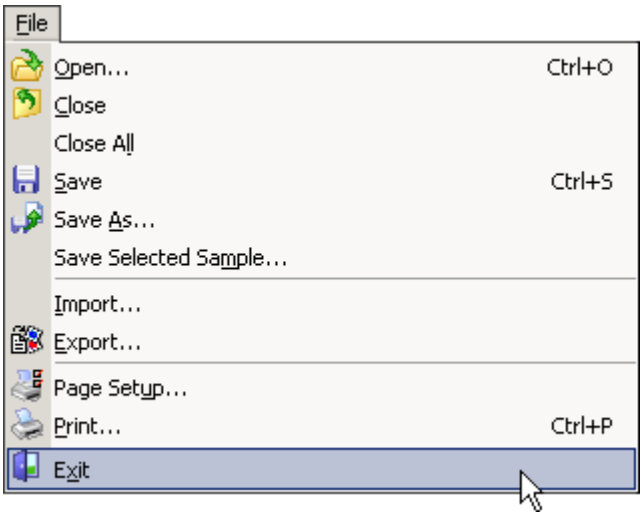
6 Selezionare la casella di controllo *Select file in Data Context* (Seleziona file nel contesto dati), quindi fare clic su *OK*.

Viene visualizzato il contesto *Data and Assay* (Dati e analisi) in cui è possibile esaminare i risultati ed acquisire familiarità con le procedure di analisi e valutazione dei dati, come descritto nelle sezioni “Analisi e valutazione dei risultati di un'analisi elettroforetica” a pagina 104 e “Analisi e valutazione dei risultati di un'analisi citometrica a flusso” a pagina 237.

Uscita da 2100 Expert

Per chiudere 2100 expert:

1 Nel menu *File*, selezionare *Exit* (Esci).



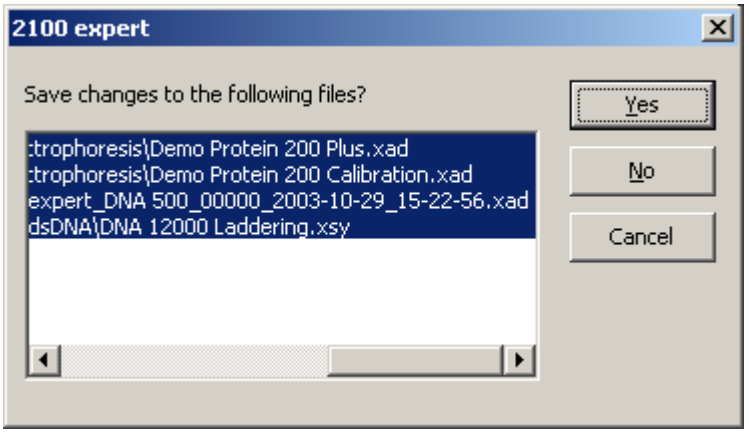
2100 expert si chiude.

Se è in corso l'analisi di un chip, viene visualizzato il seguente messaggio:



Fare clic su *OK* ed attendere il termine dell'analisi del chip.

In alcuni casi è possibile che venga visualizzata la seguente finestra di dialogo:



NOTA

Questa finestra di dialogo viene visualizzata quando si tenta di cambiare contesto ed i dati non sono ancora stati salvati.

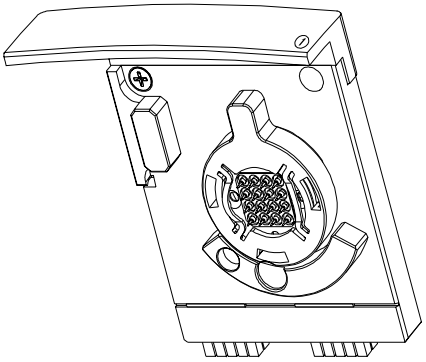
- Fare clic su *Yes* (Sì) per salvare le modifiche apportate ai file selezionati e chiudere 2100 expert.

  Se si desidera salvare le modifiche solo su file specifici, selezionare i file dall'elenco con un clic del mouse. Per impostazione predefinita, vengono selezionati tutti i file con modifiche non salvate.
- Fare clic su *No*, 2100 expert per uscire senza salvare le modifiche.
- Per continuare ad usare 2100 expert, fare clic su *Cancel* (Annulla). Viene ripristinata la sessione di 2100 expert e le modifiche vengono annullate.

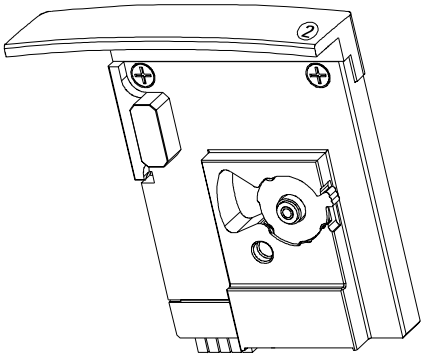
Come passare dall'analisi elettroforetica all'analisi citometrica a flusso e viceversa

Il bioanalizzatore Agilent 2100 supporta le analisi elettroforetiche (DNA, RNA e proteina) e l'analisi citometrica a flusso (come l'apoptosi).

Il bioanalizzatore utilizza due cartucce diverse per l'analisi elettroforetica e per quella citometrica a flusso.



Cartuccia ad elettrodo per analisi elettroforetiche



Cartuccia a pressione per analisi citometrica a flusso

- La *cartuccia ad elettrodo* contiene 16 elettrodi che combaciano con i pozzetti dei chip per DNA, RNA e Proteina. Ogni elettrodo della cartuccia viene alimentato separatamente. Tutte le analisi elettroforetiche (DNA, RNA e Proteina) richiedono una cartuccia ad elettrodo. La cartuccia ad elettrodo riporta il numero "1" inciso sulla parte frontale.
- La *cartuccia a pressione* contiene un blocco di tubicini e filtri che deve essere collegato alla pompa da vuoto. La tenuta deve combaciare con il pozzetto di priming del chip per consentire l'applicazione della bassa pressione richiesta. La cartuccia a pressione riporta il numero "2" inciso sulla parte frontale.

NOTA

Esistono anche cartucce senza numero inciso sulla parte frontale. Sono tutte cartucce ad elettrodo.

Per passare dall'analisi citometrica a flusso all'analisi elettroforetica, seguire le istruzioni riportate nella sezione "Come preparare il bioanalizzatore per l'analisi elettroforetica" a pagina 54.

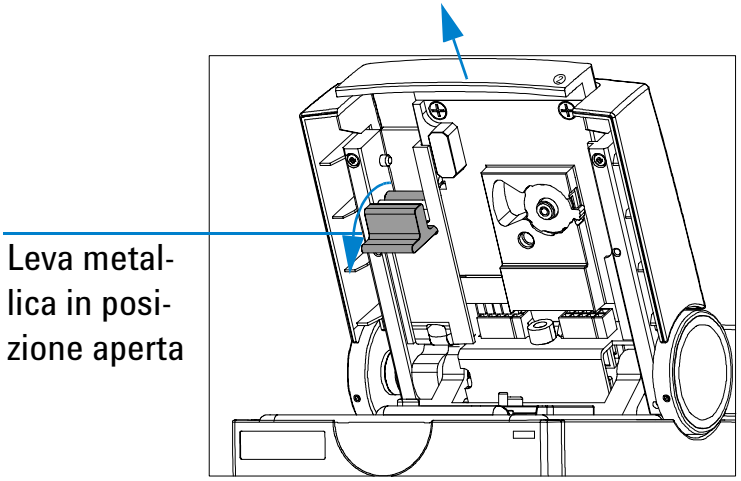
Per passare dall'analisi elettroforetica all'analisi citometrica a flusso, seguire le istruzioni riportate nella sezione "Come preparare il bioanalizzatore per l'analisi citometrica a flusso" a pagina 57.

Come preparare il bioanalizzatore per l'analisi elettroforetica

Rimuovere la cartuccia a pressione.

1 Aprire il coperchio.

2 Abbassare la leva di bloccaggio in metallo come mostrato nella figura.



La cartuccia viene espulsa.

3 Tirare delicatamente la cartuccia estraendola dal coperchio.

NOTA

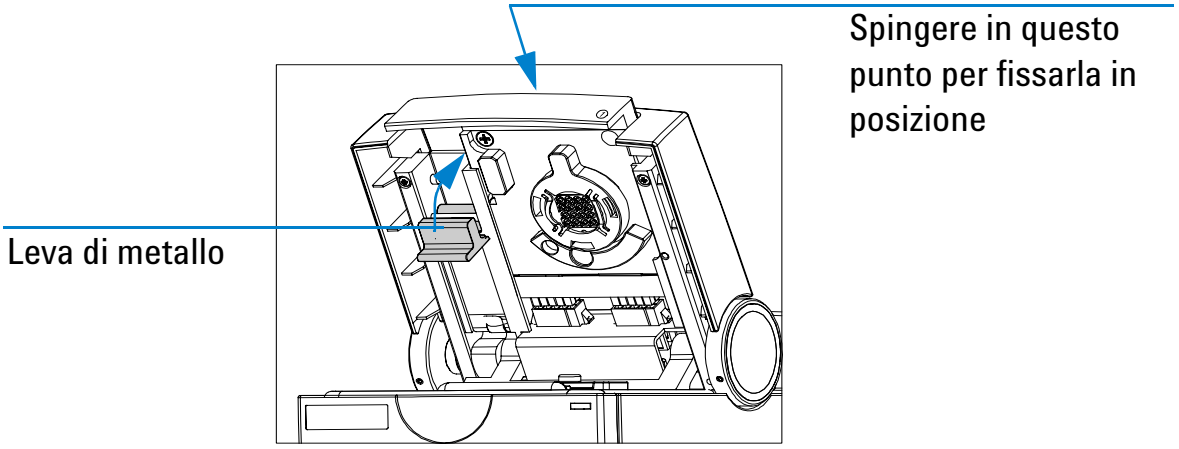
Riporre la cartuccia a pressione nell'apposita custodia.

Inserire la cartuccia ad elettrodo.

ATTENZIONE

Non toccare gli elettrodi quando la cartuccia è nel bioanalizzatore Agilent 2100, per evitare di danneggiare gli elettrodi e gli alimentatori ad alta tensione.

1 Infilare la cartuccia ad elettrodo nel coperchio come mostra la figura.



2 Spingere la parte anteriore in metallo della cartuccia per bloccarla in posizione.

3 Collocare la leva metallica di bloccaggio in piano (posizione chiusa).

ATTENZIONE

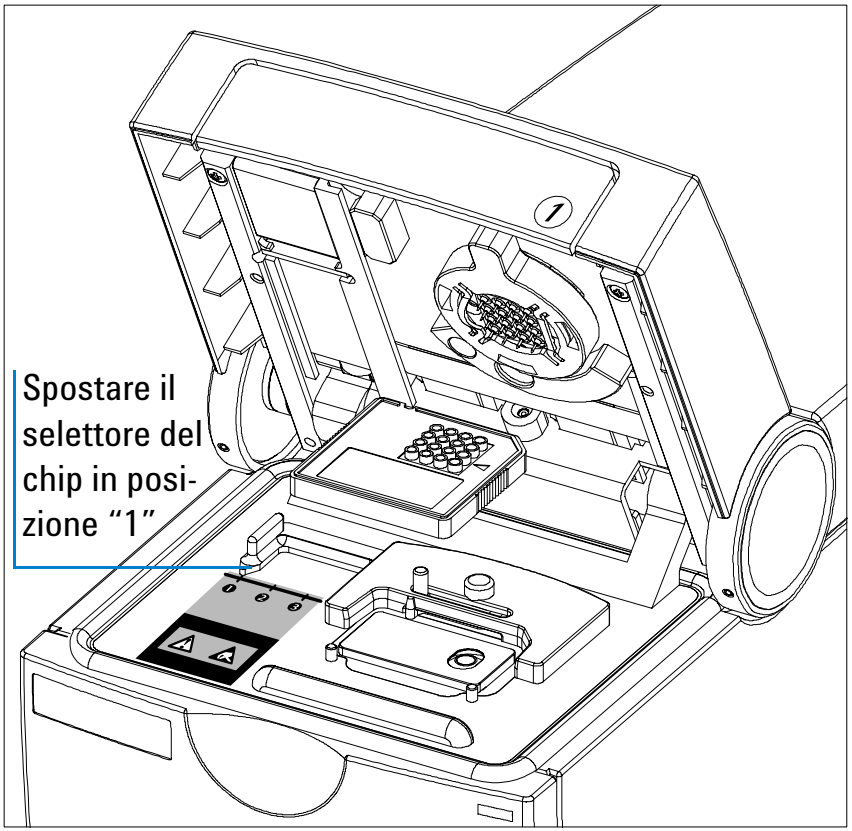
Non chiudere il coperchio con forza, per non danneggiare la cartuccia. Se il coperchio non si chiude completamente, controllare che la cartuccia sia inserita correttamente e riprovare.

4 Rimuovere tutti i chip presenti.

ATTENZIONE

Non forzare la manopola del selettore del chip se il chip è inserito nel bioanalizzatore.

5 Spostare il selettore del chip in posizione "1" come mostra la figura seguente.



Il bioanalizzatore è munito di un selettore del chip che evita che vengano usate cartucce incompatibili (ciò assicura che il chip inserito sia adatto per la cartuccia installata.)

In questa posizione è possibile inserire nel bioanalizzatore chip per l'analisi di DNA, RNA e Proteina.

Come preparare il bioanalizzatore per l'analisi citometrica a flusso

Rimuovere la cartuccia ad elettrodo.

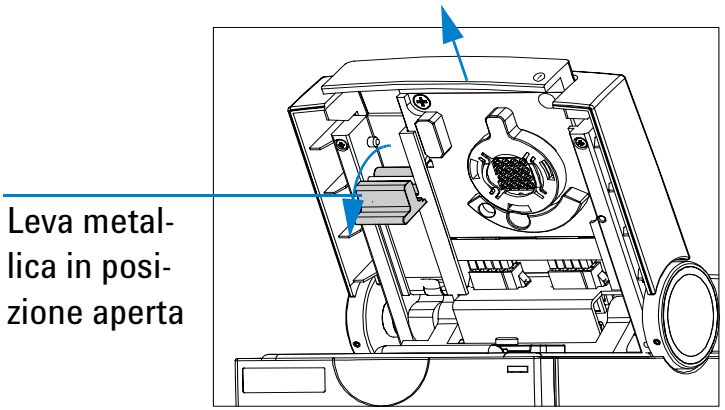
1 Aprire il coperchio.

ATTENZIONE

Non toccare gli elettrodi quando la cartuccia è nel bioanalizzatore Agilent 2100, per non danneggiare gli elettrodi e gli alimentatori ad alta tensione.

---

2 Abbassare la leva metallica di bloccaggio nella posizione aperta come mostra la figura seguente.



La cartuccia viene espulsa.

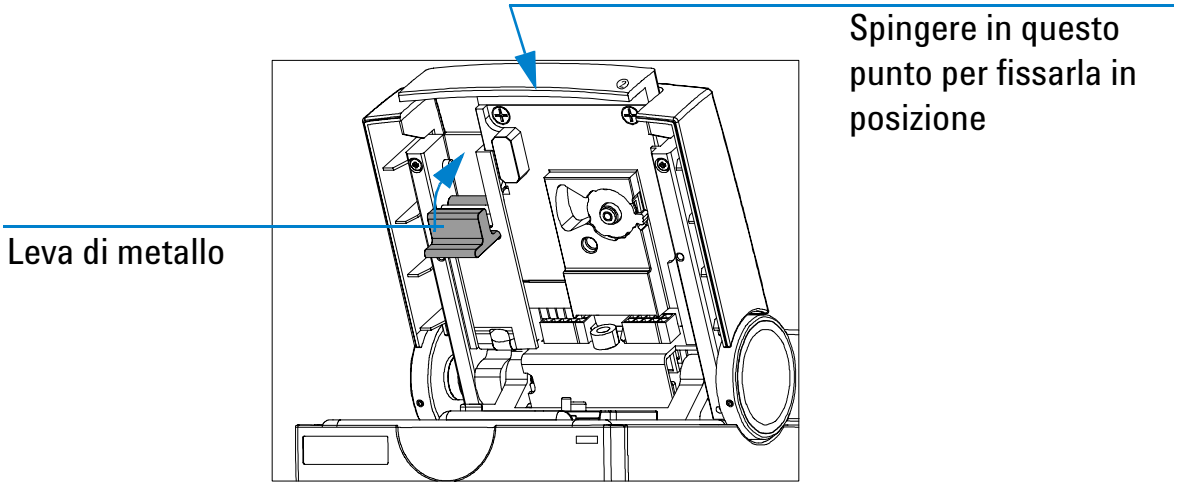
3 Tirare delicatamente la cartuccia estraendola dal coperchio.

ATTENZIONE

Riporre la cartuccia ad elettrodo nell'apposita custodia. Se i piedini della cartuccia ad elettrodo sono piegati o non perfettamente allineati, è possibile che i risultati delle analisi siano imprecisi o che le analisi del chip terminino prima del previsto.

Inserire la cartuccia a pressione.

1 Infilare la cartuccia a pressione nel coperchio come mostra la figura.



2 Spingere la parte anteriore metallica della cartuccia per bloccarla in posizione.

3 Collocare la leva di bloccaggio in metallo in piano (posizione chiusa).

ATTENZIONE

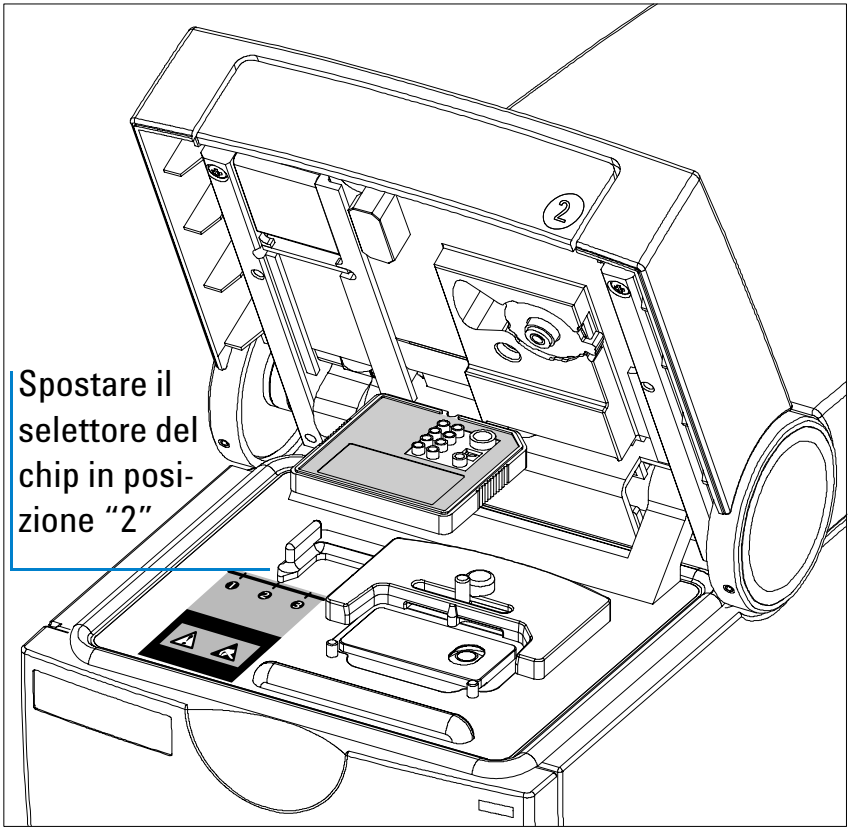
Non chiudere il coperchio con forza per non danneggiare la cartuccia. Se il coperchio non si chiude completamente, controllare che la cartuccia sia inserita correttamente e riprovare.

4 Rimuovere tutti i chip presenti.

ATTENZIONE

Non forzare la manopola del selettore del chip se il chip è inserito nel bioanalizzatore.

5 Spostare il selettore del chip in posizione "2" come mostra la figura seguente.



Il bioanalizzatore è munito di un selettore del chip che evita che vengano utilizzati chip e cartucce incompatibili. Ciò assicura che il chip inserito sia adatto per la cartuccia installata.

In questa posizione è possibile inserire nel bioanalizzatore chip per l'analisi cellulare.

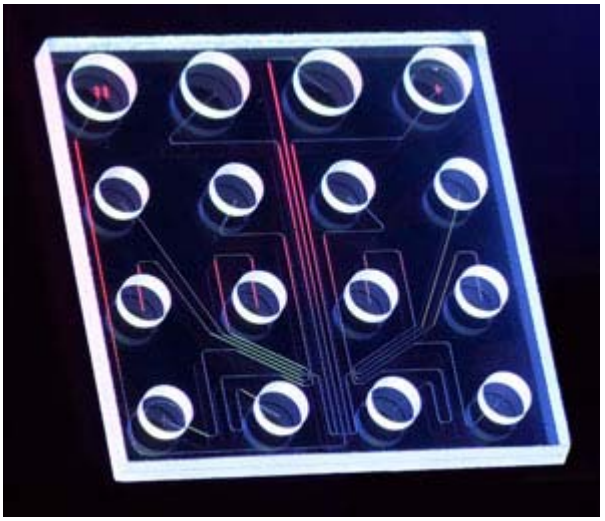
Esecuzione e valutazione di un'analisi elettroforetica

Per l'esecuzione e la valutazione di un'analisi elettroforetica, occorre conoscere quanto segue:

- "Principi dell'analisi su chip di acido nucleico e proteina" a pagina 62
- "Preparazione ed esecuzione di un'analisi elettroforetica" a pagina 67
- "Analisi e valutazione dei risultati di un'analisi elettroforetica" a pagina 104
- "Result Flagging (Evidenziazione dei risultati)" a pagina 179

Principi dell'analisi su chip di acido nucleico e proteina

Le analisi elettroforetiche sono basate sui principi dell'elettroforesi su gel tradizionale che sono stati trasferiti al formato del chip. Il formato del chip riduce drasticamente il tempo di separazione ed il consumo di campione. Il sistema fornisce informazioni sul dimensionamento e la quantificazione automatica in formato digitale. L'elettroforesi su gel in chip viene effettuata per l'analisi di DNA, RNA e proteine.



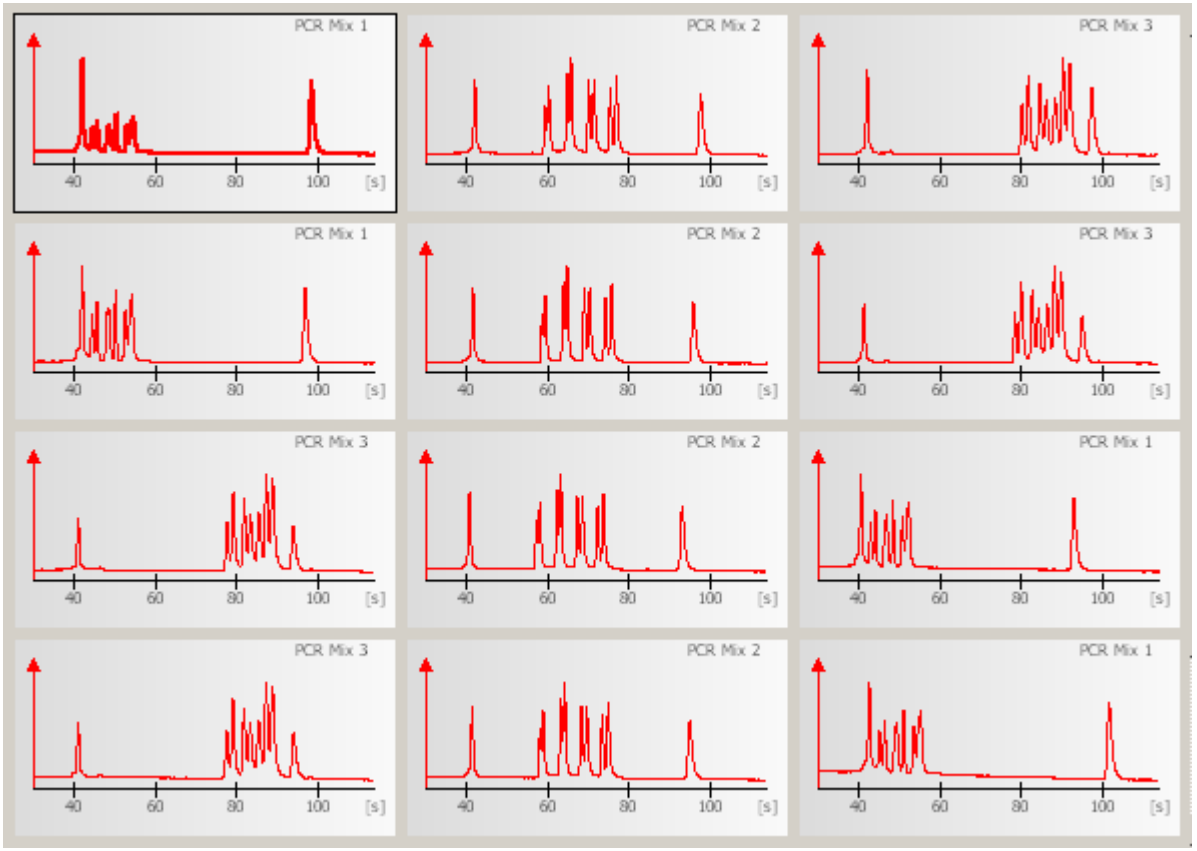
Il chip accoglie i pozzetti per i campioni, i pozzetti del gel ed un pozzetto per lo standard esterno (ladder). Nel vetro vengono realizzati dei microcanali per creare reti di interconnessione tra i pozzetti. Durante la preparazione del chip, i microcanali vengono riempiti con un setaccio polimerico e un colorante fluorescente. Dopo aver riempito i pozzetti ed i canali, il chip diventa un circuito elettrico integrato. Gli elettrodi a 16 pin della cartuccia sono disposti in modo di corrispondere ai pozzetti del chip. Ogni elettrodo è connesso ad un alimentatore indipendente che fornisce il massimo controllo e la massima flessibilità.

Le biomolecole cariche, come DNA o RNA, vengono guidate elettroforeticamente da un gradiente di tensione - simile all'elettroforesi su slab gel. Grazie ad un rapporto massa/carica costante ed alla presenza di una matrice costituita da un setaccio polimerico, le molecole vengono separate in base alla loro dimensione. I frammenti più piccoli migrano più velocemente rispetto a quelli più grandi. Le molecole del colorante si intercalano tra le eliche del DNA o del RNA o tra le micelle della proteina-SDS. Questi complessi vengono rilevati tramite fluorescenza indotta dal laser. I dati vengono tradotti in immagini gel-simili (bande) ed elettroferogrammi (picchi). Con l'aiuto di uno standard che contiene frammenti di dimensione e concentrazione note, viene stampata una curva del tempo di migrazione rispetto alla dimensione dei frammenti. La dimensione viene calcolata in base ai tempi di migrazione misurati per ogni frammento. Due frammenti marker (per RNA un solo frammento marker) vengono analizzati con ogni campione evidenziando l'intervallo delle dimensioni totali. I marker "inferiore" e "superiore" sono standard interni utilizzati per allineare i dati dello standard con i dati provenienti dai pozzetti dei campioni. Questo è necessario per compensare gli effetti di deviazione che possono intervenire durante il corso dell'analisi di un chip.

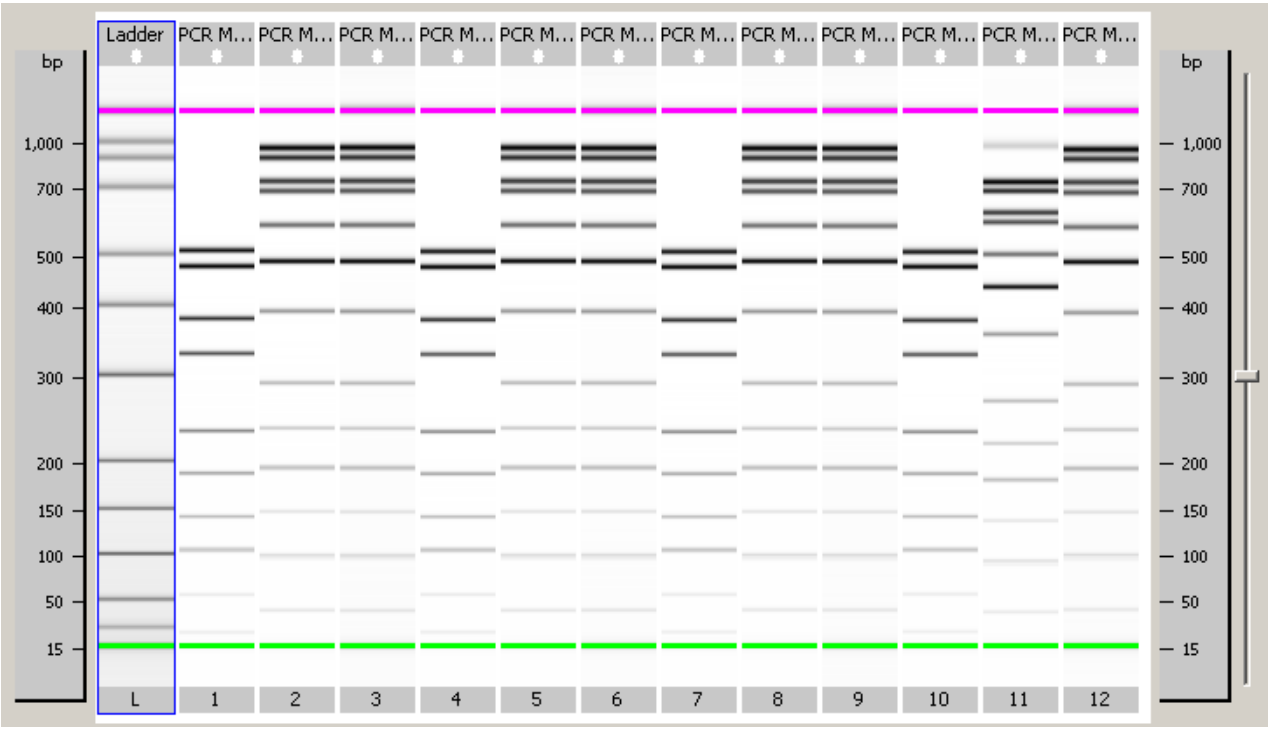
Per l'analisi di DNA e proteina, la quantificazione viene eseguita con l'aiuto del marker superiore. L'area al di sotto del picco del marker superiore viene confrontata con le aree dei picchi dei campioni. Dato che la concentrazione del marker superiore è nota, si può calcolare la concentrazione di ogni campione. Oltre a questa quantificazione relativa, per l'analisi della proteina è disponibile una quantificazione di tipo assoluto che utilizza proteine standard esterne.

Per l'analisi di RNA e proteina, la quantificazione viene eseguita con l'aiuto dell'area dello standard. L'area al di sotto del picco dello standard viene confrontata con le aree dei picchi dei campioni. L'area al di sotto del marker "inferiore" non viene presa in considerazione. Per le analisi dell'RNA totale, viene determinato il rapporto ribosomiale che fornisce un'indicazione dell'integrità del campione di RNA.

Il software 2100 expert riporta in grafico l'intensità della fluorescenza rispetto al tempo di migrazione e produce un elettroferogramma per ogni campione:



I dati possono anche essere visualizzati come un grafico densitometrico, creando un'immagine gel-simile:



Preparazione ed esecuzione di un'analisi elettroforetica

Un'analisi con chip elettroforetico richiede i seguenti passaggi:

1. Impostare ed accendere il bioanalizzatore Agilent 2100.

   Vedere la sezione "Come passare dall'analisi elettroforetica all'analisi citometrica a flusso e viceversa" a pagina 52.

2. Avviare il software 2100 expert.

   Per informazioni più dettagliate, vedere la sezione "Avvio di 2100 Expert" a pagina 34.

3. Selezionare un'analisi elettroforetica:

   Vedere la sezione "Selezione di un tipo di analisi elettroforetica per il chip" a pagina 69.

4. Preparare chip e campioni.

   Vedere la sezione "Preparazione di campioni e chip per l'analisi elettroforetica" a pagina 74 e la *Nota applicativa* e la *Guida kit reagenti* applicabile.

5. Caricare il chip nel bioanalizzatore.

   Per informazioni dettagliate, vedere la sezione "Caricare il chip per elettroforesi nel bioanalizzatore" a pagina 78.

6. Avviare l'analisi del chip.

   Questa analisi è descritta nella sezione "Esecuzione di un'analisi elettroforetica" a pagina 81.

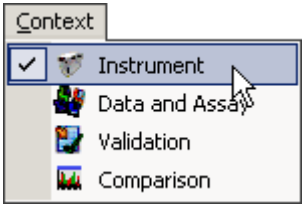
Al termine dell'analisi del chip, è possibile:

- Dare una prima occhiata ai risultati (vedere la sezione "Visualizzazione dei risultati d'analisi (Elettroforesi)" a pagina 92).
- Documentare l'analisi del chip (vedere la sezione "Inserimento di informazioni relative a chip, campione e studio" a pagina 89).
- Analizzare e valutare i risultati:
  - "Analisi e valutazione dei risultati di un'analisi elettroforetica" a pagina 104
  - "Result Flagging (Evidenziazione dei risultati)" a pagina 179

Selezione di un tipo di analisi elettroforetica per il chip

Per selezionare un tipo di analisi:

1 Passare al contesto *Instrument* (Strumento).



2 Su *Pannello della struttura ad albero*, selezionare il bioanalizzatore che si desidera utilizzare.



L'angolo in alto a sinistra della scheda *Instrument* (Strumento) contiene un'icona che mostra lo stato del bioanalizzatore. Viene visualizzata una delle seguenti icone (coperchio aperto/chiuso), che indica che il bioanalizzatore è stato rilevato dal sistema.





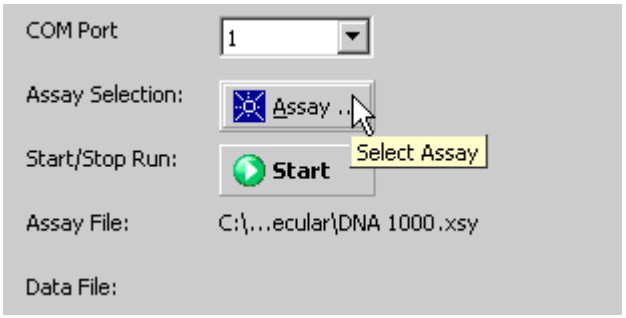
3 Se nessuna di queste icone è visibile, controllare che il bioanalizzatore sia acceso e connesso correttamente:

- Verificare le impostazioni della *porta COM Port (Porta COM)*.
- Verificare che il bioanalizzatore sia fisicamente connesso al PC (tramite l'interfaccia seriale).
- Controllare la connessione del cavo di alimentazione.
- Controllare l'interruttore di accensione.

Per ulteriore aiuto, vedere la *Guida alla manutenzione e risoluzione dei problemi del Bionalizzatore Agilent 2100*.

4 Selezionare un tipo di analisi per l'analisi del chip.

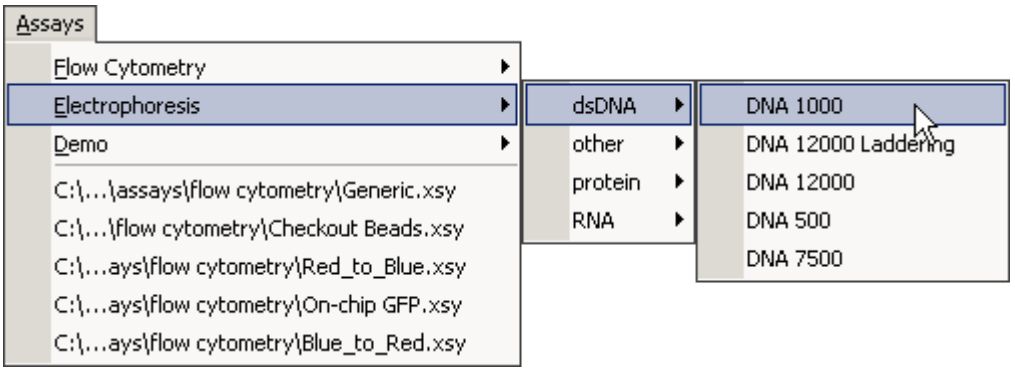
Nella scheda *Instrument* (Strumento), fare clic sul pulsante *Assay...* (Analisi).



– OPPURE –

Fare clic sul menu *Assays* (Tipi di analisi).

In entrambi i casi si apre il menu *Assays* (Analisi), che consente di selezionare un tipo di analisi dai sottomenu.



– OPPURE –

Selezionare *File* > *Open File to Run...*(File > Apri file da eseguire). Viene visualizzata una finestra di dialogo che consente di caricare un'analisi (.xsy) oppure un file di dati del chip (.xad).

Il tipo di analisi da selezionare dipende dall'esperimento e dal kit reagente utilizzato per preparare i campioni. I dettagli di queste analisi sono descritti nelle *Note applicative* disponibili per ogni analisi e nella *Guida dei kit reagenti*.

5 Selezionare il tipo di analisi desiderato. per esempio, *DNA 1000*.

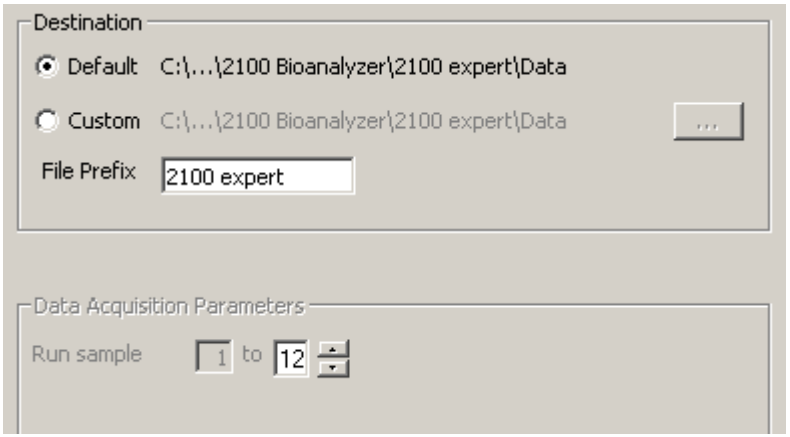
Il tipo di analisi viene caricato ed il suo nome compare sulla *Barra delle informazioni*:



NOTA

Successivamente all'analisi di un chip, i risultati possono essere valutati utilizzando un diverso file di dati del chip elettroforetico (.xad) appartenente allo stesso tipo di analisi (DNA 1000 in questo campione). Vedere la sezione "Importazione di impostazione di analisi dei dati" a pagina 307.

6 Selezionare una *Destination* (Destinazione) per il file di dati del chip (.xad) generato come risultato dell'analisi del chip:



7 In *Data Acquisition Parameters* (Parametri di acquisizione dei dati), inserire il numero di campioni che si desidera analizzare.

Il numero totale di campioni che può essere analizzato varia con il tipo di analisi selezionato. Con le analisi Nano per DNA e RNA, possono essere analizzati 12 campioni; con le analisi RNA Pico, 11 campioni; e con le analisi Protein il numero massimo di campioni è 10. Nella preparazione del chip (vedere "Preparazione di campioni e chip per l'analisi elettroforetica" a pagina 74), seguire la sequenza dei pozzetti del campione. Per esempio, se si vogliono analizzare 3 campioni, riempire i pozzetti 1, 2 e 3 del chip.

Preparazione di campioni e chip per l'analisi elettroforetica

Prima di poter riempire un chip, occorre preparare il campione. Per sapere come preparare i campioni, vedere le varie *Guide dei kit reagenti* disponibili per ogni kit LabChip. Vedere questi documenti per ulteriori informazioni e specifiche analitiche.

In generale la preparazione di un'analisi elettroforetica implica i seguenti passaggi:

- Verificare di avere a disposizione tutto quello che è elencato nella guida del kit reagente corrispondente.

  Essere coscienti che ci possono essere piccole ma importanti differenze tra le diverse analisi anche per lo stesso tipo di molecole (per esempio, tra l'analisi DNA 1000 e DNA 7500).
- Assicurarsi si avere familiarità con le pratiche d'analisi essenziali (vedere la sezione che segue).
- Prima di eseguire la prima analisi RNA: decontaminare gli elettrodi.
- Preparare tutte le miscele di reagenti (per esempio la miscela gel-colorante).
- Caricare la miscela gel-colorante utilizzando la stazione di priming.
- Caricare la soluzione di marker DNA/RNA.
- Caricare il chip con standard, campioni e tampone (in base al tipo di analisi).

Pratiche d'analisi essenziali (Analisi elettroforetica)

Generale

AVVISO

Indossare adeguate protezioni per occhi e mani e seguire la buona pratica di laboratorio durante la preparazione e la manipolazione di reagenti e campioni.

AVVISO

Non sono disponibili dati relativi alla mutagenicità o tossicità del colorante/reagente DMSO. Dato che il colorante si lega agli acidi nucleici, deve essere trattato come sostanza potenzialmente mutagena ed utilizzato con la dovuta attenzione. Le miscele di DMSO devono essere manipolate con particolare cautela dato che il DMSO è noto per facilitare l'ingresso di molecole organiche nei tessuti. Si raccomanda fortemente l'utilizzo di un doppio paio di guanti durante la manipolazione delle miscele di DMSO.

- Maneggiare e conservare tutti i reagenti secondo quanto indicato dalle *Guide dei kit reagenti*.
- Evitare sorgenti di polvere o altri contaminanti. Corpi estranei presenti nei reagenti, nei campioni o nei pozzetti del chip, possono interferire con i risultati dell'analisi.
- Durante l'erogazione del liquido, inserire sempre il puntale della pipetta fino sul fondo del pozzetto. Posizionando il puntale della pipetta sul bordo del pozzetto si possono ottenere risultati scarsi a causa della formazione di bolle sul fondo del pozzetto.



- Proteggere il colorante e la miscela gel-colorante dalla luce. Rimuovere i coperchi di protezione dalla luce solo nel momento del pipettaggio. Il colorante si decompone quando viene esposto alla luce.
- Per ogni nuovo kit LabChip utilizzare una nuova siringa ed un nuovo pulitore per l'elettrodo.
- Non toccare il bioanalizzatore Agilent 2100 durante l'analisi di un chip e non metterlo mai su una superficie che può vibrare.
- Conservare tutti i reagenti e le miscele di reagenti refrigerati a 4°C quando non sono in uso.
- Lasciare equilibrare a temperatura ambiente per 30 minuti tutti i reagenti e i campioni prima dell'uso.
- Utilizzare i chipcaricati entro 5 minuti. I reagenti potrebbero evaporare inficiando i risultati.

Analisi RNA

- Indossare sempre i guanti quando si utilizza RNA ed utilizzare puntali, microprovette e acqua privi di RNase,
- Si raccomanda di denaturare tutti i campioni di RNA e lo standard di RNA per riscaldamento prima dell'uso (70°C, 2 minuti).
- Agitare sempre con vortex il colorante concentrato per 10 secondi prima di preparare la miscela gel- colorante.

Analisi della proteina

- Conservare il tampone per il campione dei proteina -20°C dal momento dell'arrivo. Tenere le vial in uso a 4°C per evitare cicli di congelamento-scongelamento.
- Prima dell'uso, lasciare equilibrare a temperatura ambiente per 20 minuti il colorante concentrato, per essere sicuri che il DMSO sia completamente scongelato. Proteggere il colorante dalla luce durante tale periodo. Agitare con vortex prima dell'uso.
- Lasciare equilibrare a temperatura ambiente per 10 minuti tutti i reagenti prima dell'uso.
- Utilizzare provette da 0,5 ml per denaturare i campioni. L'utilizzo di provette più grandi può inficiare i risultati a causa dell'evaporazione.

Caricare il chip per elettroforesi nel bioanalizzatore

Dopo averlo preparato, il chip può essere inserito nel bioanalizzatore Agilent 2100.

Per caricare il chip nel bioanalizzatore:

1 Aprire il coperchio.

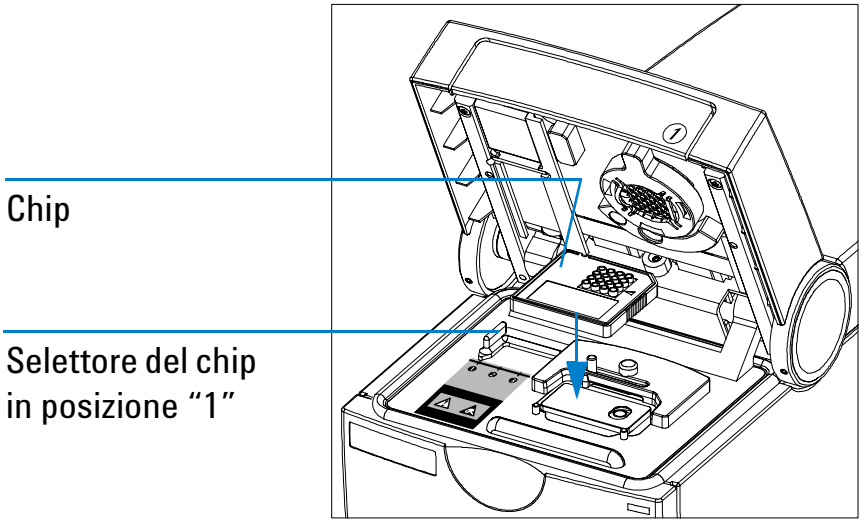
NOTA

Prima di inserire il chip, controllare di aver inserito la cartuccia dell'elettrodo e che il selettore del chip sia sulla posizione "1". Per informazioni più dettagliate, vedere la sezione “Come passare dall'analisi elettroforetica all'analisi citometrica a flusso e viceversa” a pagina 52.

---

2 Mettere nell'apposito alloggiamento il chip preparato.

Il chip può essere inserito solo in una posizione. Non forzare per inserirlo.

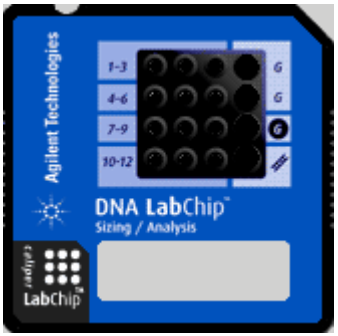


3 Chiudere il coperchio con cautela.

ATTENZIONE

Non forzare per chiudere il coperchio. Si corre il rischio di danneggiare la cartuccia. Se il coperchio non si chiude completamente e verificare che la cartuccia ed il chip siano stati inseriti in modo corretto e che il selettore del chip sia nella posizione corretta.

L'icona della scheda *Instrument* (Strumento) diventa l'icona di un chip per DNA, se viene selezionata un'analisi del DNA:



Se il chip non viene rilevato, aprire e richiudere il coperchio ancora una volta.

NOTA

Se l'opzione *AutoRun* (Esecuzione automatica) è attiva (vedere la sezione "Options – Advanced (Opzioni – Avanzate)" a pagina 594), l'analisi del chip si avvia automaticamente dopo l'inserimento del chip e la chiusura del coperchio.

Esecuzione di un'analisi elettroforetica

L'esecuzione di un'analisi elettroforetica in 2100 expert significa dover semplicemente premere un pulsante.

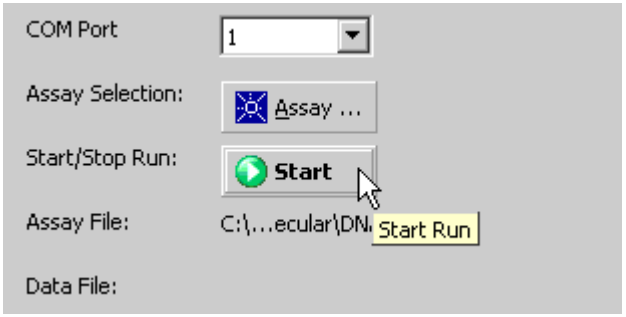
NOTA

L'analisi di un chip può essere interrotta in qualsiasi momento, per esempio, se si verifica un errore, oppure se non si è soddisfatti della qualità dei risultati osservati durante l'analisi del chip. Vedere la sezione "Interruzione dell'analisi di un chip" a pagina 86.

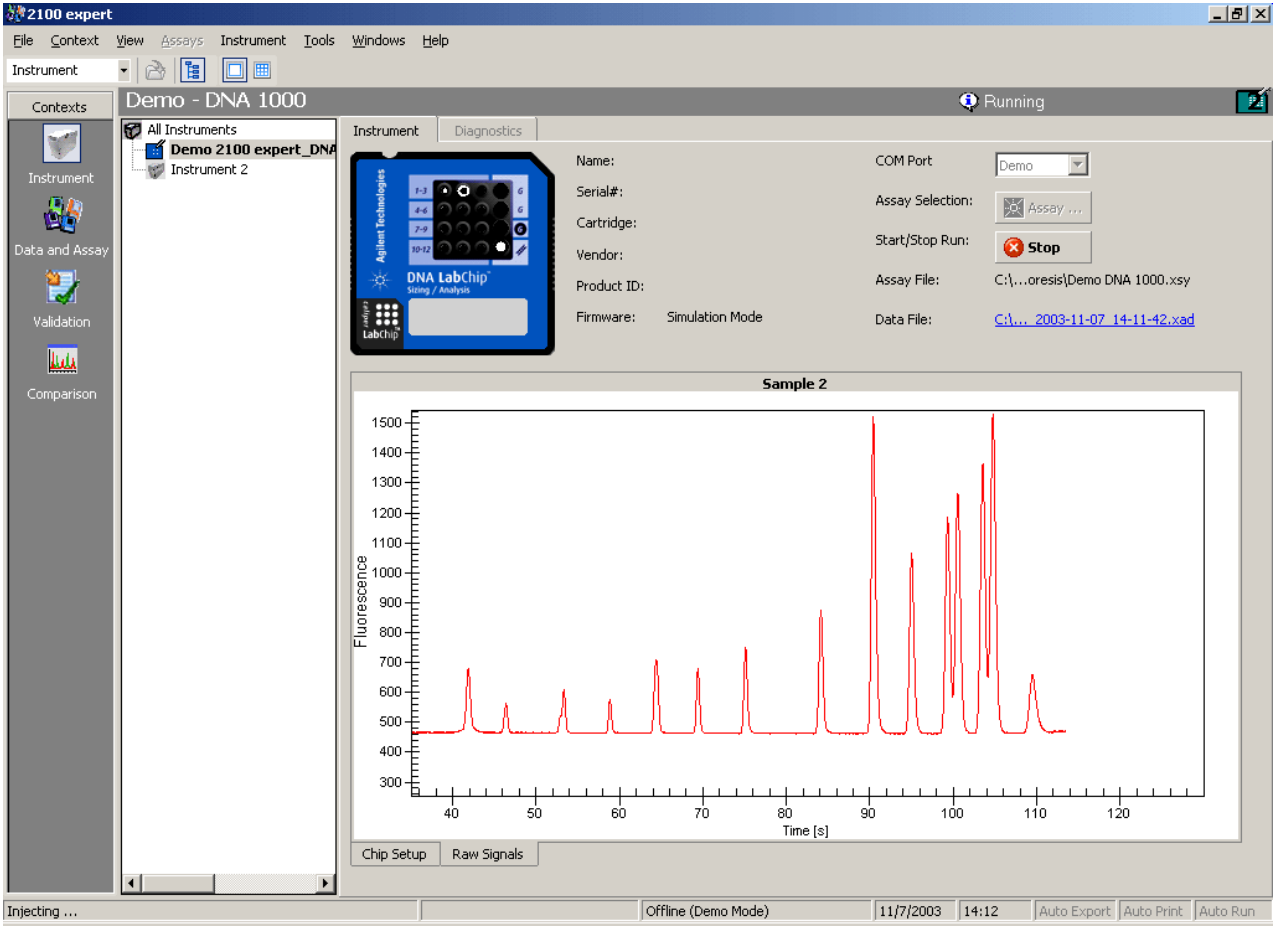
Avvio dell'analisi del chip

Quando il chip è stato caricato, si può far partire l'analisi:

1 Nella scheda *Instrument* (Strumento), fare clic sul pulsante *Start* (Avvio).



L'analisi del chip viene avviata. La scheda secondaria *Raw Signals* (Segnali grezzi) mostra l'elettroferogramma del campione attualmente analizzato. Sopra il grafico viene visualizzato il nome del campione analizzato in quel momento. Il grafico è una rappresentazione "in diretta" del tempo di migrazione rispetto alle unità fluorescenti (per esempio, dati grezzi, comprendenti la fluorescenza di fondo).



Il numero del campione analizzato in quel momento viene indicato sulla barra delle informazioni:

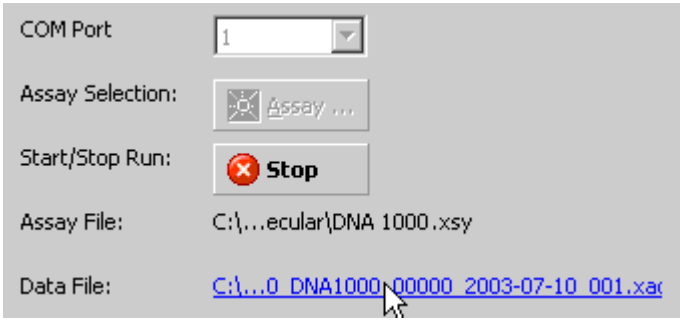


La barra di stato mostra il nome del campione misurato in quel momento, una barra di avanzamento mostra il grado di avanzamento del processo di analisi del campione attuale (non per tutta l'analisi del chip), ed il numero della porta COM utilizzata per l'acquisizione dei dati:



Durante l'analisi del chip, è possibile effettuare le seguenti operazioni:

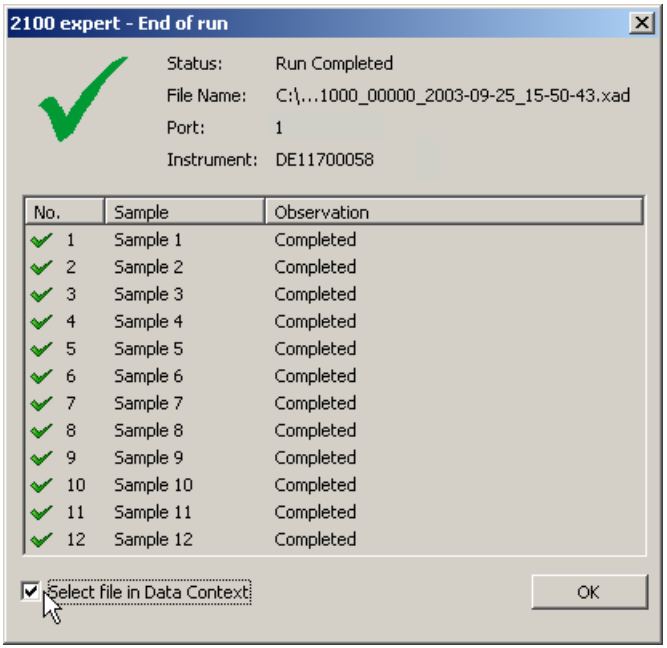
- Visualizzare il file di dati del chip nel contesto *Data and Assay* (Dati ed analisi) facendo clic sul nome del *Data File* (File di dati):



- Passare ad un altro contesto. Per esempio, è possibile valutare un file di dati del chip qualsiasi nel contesto *Data and Assay* (Dati e analisi) oppure confrontare campioni nel contesto *Comparison* (Confronto).
- Se necessario, annullare l'analisi del chip facendo clic sul pulsante *Stop* (Interrompi). Tutti i dati raccolti fino al momento dell'interruzione dell'analisi verranno salvati.

Termine dell'analisi del chip

Al termine dell'analisi viene visualizzata la finestra di dialogo *End of run* (Fine dell'analisi) che mostra il numero di campioni che sono stati analizzati ed il nome del file in cui sono stati salvati i dati d'analisi del chip. Se si verificano degli errori, anche questi saranno visualizzati in questa finestra di dialogo.



1 Per vedere immediatamente i risultati nel contesto *Data and Assay* (Dati e analisi), occorre selezionare la casella di controllo *Select file in Data Context* (Seleziona file nel contesto Dati).

2 Fare clic su *OK*.

La finestra di dialogo viene chiusa.

- Selezionando *Select file in Data Context* (Seleziona file nel contesto Dati) si viene inviati direttamente al contesto *Data and Assay* (Dati e analisi), dove è possibile visualizzare, analizzare e valutare i risultati dell'analisi del chip (vedere "Visualizzazione dei risultati d'analisi (Elettroforesi)" a pagina 92 e"Analisi e valutazione dei risultati di un'analisi elettroforetica" a pagina 104).
- Se invece *non* viene selezionata la casella di controllo *Select file in Data Context* (Seleziona file nel contesto Dati) il software torna al contesto *Instrument* (Strumento) dove, per esempio, è possibile far partire una nuova analisi.

Interruzione dell'analisi di un chip

È possibile interrompere l'analisi di un chip in qualsiasi momento, per esempio

- Se la qualità dei risultati d'analisi non soddisfa le aspettative,
- Se per esempio, dopo tre soli campioni si hanno già a disposizione tutte le informazioni richieste e si vuole analizzare un atro chip.

NOTA

Non è possibile riprendere un'analisi interrotta.

NOTA

Quando si interrompe l'analisi di un chip, l'esportazione automatica (vedere la sezione "Esportazione automatica di dati d'analisi del chip" a pagina 314) e la stampa automatica (vedere la sezione"Come attivare e configurare la stampa automatica dei report d'analisi del chip" a pagina 328) *non* vengono eseguite.

Per interrompere l'analisi:

1 Fare clic sul pulsante *Stop* 

(Interrompi).

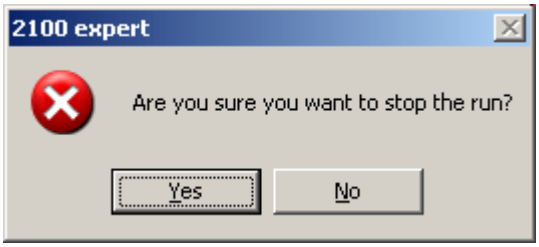
– OPPURE –

Selezionare *Stop* (Interrompi) sul menu *Instrument* (Strumento) menu.

NOTA

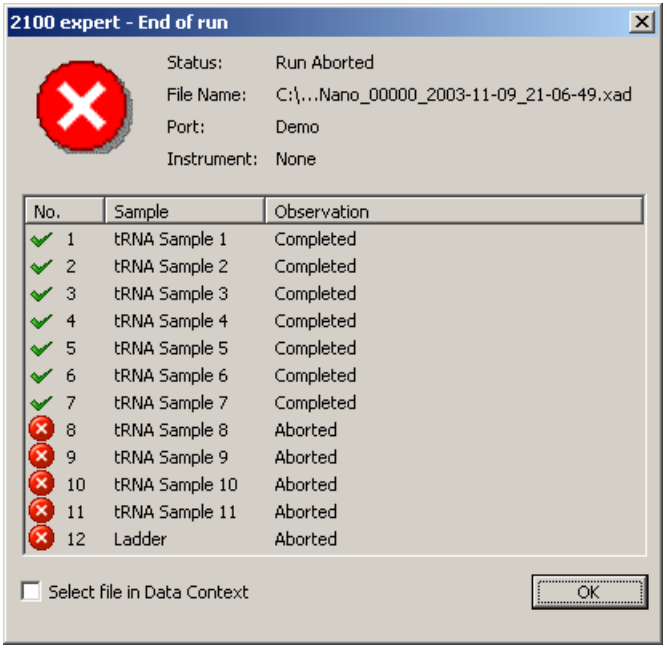
L'acquisizione dei dati del campione in analisi verrà annullata.

Appariranno i seguenti messaggi:



2 Fare clic su *Yes* (Si) per interrompere l'analisi del chip.

Viene visualizzata la finestra di dialogo *End of Run* (Fine analisi).


2100 expert - End of run
Status: Run Aborted
File Name: C:\...Nano_00000_2003-11-09_21-06-49.xad
Port: Demo
Instrument: None
No. Sample Observation
1 tRNA Sample 1 Completed
2 tRNA Sample 2 Completed
3 tRNA Sample 3 Completed
4 tRNA Sample 4 Completed
5 tRNA Sample 5 Completed
6 tRNA Sample 6 Completed
7 tRNA Sample 7 Completed
8 tRNA Sample 8 Aborted
9 tRNA Sample 9 Aborted
10 tRNA Sample 10 Aborted
11 tRNA Sample 11 Aborted
12 Ladder Aborted
Select file in Data Context
OK

Il campione analizzato viene segnalato da un segno verde e solo quelli evidenziati saranno salvati sul file di dati del chip.

I campioni non analizzati saranno identificati da una croce bianca in campo rosso.

3 Per vedere immediatamente i risultati nel contesto *Data and Assay* (Dati e analisi), occorre selezionare la casella di controllo *Select file in Data Context* (Seleziona file nel contesto Dati).

4 Fare clic su *OK*.

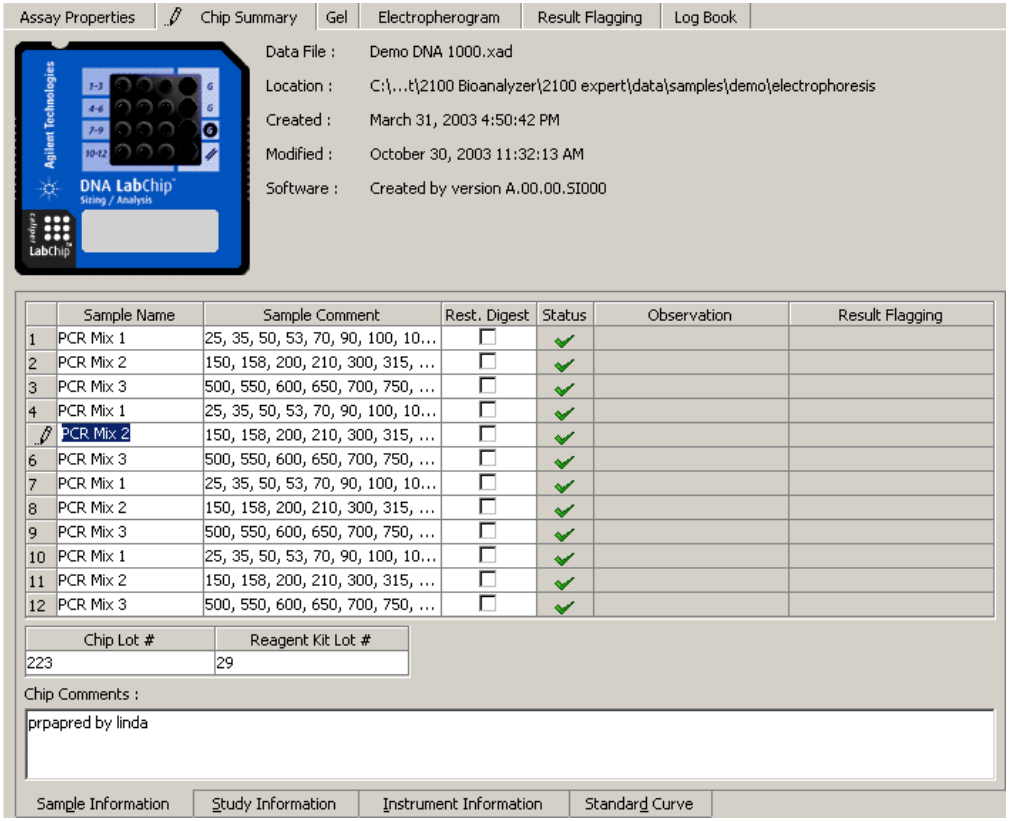
La finestra di dialogo viene chiusa.

- Selezionando *Select file in Data Context* (Seleziona file nel contesto Dati) si viene inviati direttamente al contesto *Data and Assay* (Dati e analisi), dove è possibile visualizzare, analizzare e valutare i risultati (se presenti) dell'analisi del chip (vedere "Visualizzazione dei risultati d'analisi (Elettroforesi)" a pagina 92 e"Analisi e valutazione dei risultati di un'analisi elettroforetica" a pagina 104).
- Se invece *non* viene selezionata la casella di controllo *Select file in Data Context* (Seleziona file nel contesto Dati) il software torna al contesto *Instrument* (Strumento) dove, per esempio, è possibile far partire una nuova analisi.

Inserimento di informazioni relative a chip, campione e studio

Durante o successivamente all'analisi del chip è possibile documentare l'analisi inserendo informazioni relative al chip, ai campioni ed allo studio.

1. Nel contesto *Data and Assay* (Dati e analisi) selezionare la scheda *Chip Summary* (Riassunto chip).
2. Nella scheda secondaria *Sample Information* (Informazioni campione), è possibile inserire informazioni aggiuntive come nomi dei campioni e commenti. Nella scheda secondaria *Study Information* (Informazioni studio), per esempio è possibile inserire l'indirizzo del laboratorio ed il nome dello sperimentatore.


Assay Properties
Chip Summary
Gel
Electropherogram
Result Flagging
Log Book
Agilent Technologies
DNA LabChip
Sizing / Analysis
Data File : Demo DNA 1000.xad
Location : C:\...t\2100 Bioanalyzer\2100 expert\data\samples\demo\electrophoresis
Created : March 31, 2003 4:50:42 PM
Modified : October 30, 2003 11:32:13 AM
Software : Created by version A.00.00.SI000
Sample Name | Sample Comment | Rest. Digest | Status | Observation | Result Flagging
1 PCR Mix 1 25, 35, 50, 53, 70, 90, 100, 10...
2 PCR Mix 2 150, 158, 200, 210, 300, 315, ...
3 PCR Mix 3 500, 550, 600, 650, 700, 750, ...
4 PCR Mix 1 25, 35, 50, 53, 70, 90, 100, 10...
PCR Mix 2 150, 158, 200, 210, 300, 315, ...
6 PCR Mix 3 500, 550, 600, 650, 700, 750, ...
7 PCR Mix 1 25, 35, 50, 53, 70, 90, 100, 10...
8 PCR Mix 2 150, 158, 200, 210, 300, 315, ...
9 PCR Mix 3 500, 550, 600, 650, 700, 750, ...
10 PCR Mix 1 25, 35, 50, 53, 70, 90, 100, 10...
11 PCR Mix 2 150, 158, 200, 210, 300, 315, ...
12 PCR Mix 3 500, 550, 600, 650, 700, 750, ...
Chip Lot #
Reagent Kit Lot #
223
29
Chip Comments :
prpapred by linda
Sample Information
Study Information
Instrument Information
Standard Curve

NOTA

È possibile che alcuni campi risultino già completati perché le informazioni relative a chip, campione e studio vengono inserite sulla base dei file di analisi o dei dati del chip.

Per informazioni dettagliate su tutti i campi d'inserimento, vedere la sezione "Scheda Chip Summary (Riepilogo chip)" a pagina 497.

3 Fare clic su *Apply* (Applica).

4 Sul menu *File*, selezionare *Save* (Salva).

SUGGERIMENTO

Le informazioni relative a chip, campione e studio possono essere importate da file .txt o .csv. Ciò è particolarmente utile e veloce se un chip simile è già stato documentato precedentemente in un altro file di dati del chip. Vedere la sezione "Importazione di informazioni relative a chip, campione e studio" a pagina 309 per informazioni dettagliate.

Visualizzazione dei risultati d'analisi (Elettroforesi)

I risultati dell'analisi di un chip elettroforetico possono essere visualizzati in forma elettroferogrammi o immagini gel-simili.

- Gli elettroferogrammi possono essere visualizzati per un campione alla volta, oppure è possibile visualizzarli per tutti i campioni in una sola volta per avere una panoramica dell'analisi del chip, per esempio per vedere l'avanzamento di una reazione. Vedere la sezione "Come passare dalla visualizzazione singola alla visualizzazione a griglia (Elettroferogramma)" a pagina 93.
- È possibile navigare tra i vari campioni. Vedere la sezione "Come navigare tra i vari campioni" a pagina 95.
- È possibile modificare la visualizzazione degli elettroferogrammi e delle immagini gel-simili per rendere meglio visibili i dettagli. Vedere la sezione "Come modificare la visualizzazione degli elettroferogrammi o delle immagini gel-simili" a pagina 96.

Come passare dalla visualizzazione singola alla visualizzazione a griglia (Elettroferogramma)

Per passare dalla visualizzazione singola alla visualizzazione a griglia:

1 Nel menu *Electropherogram* (Elettroferogramma) selezionare *View Single Sample* (Visualizza un singolo campione) oppure *View All Samples* (Visualizza tutti i campioni).

– OPPURE –

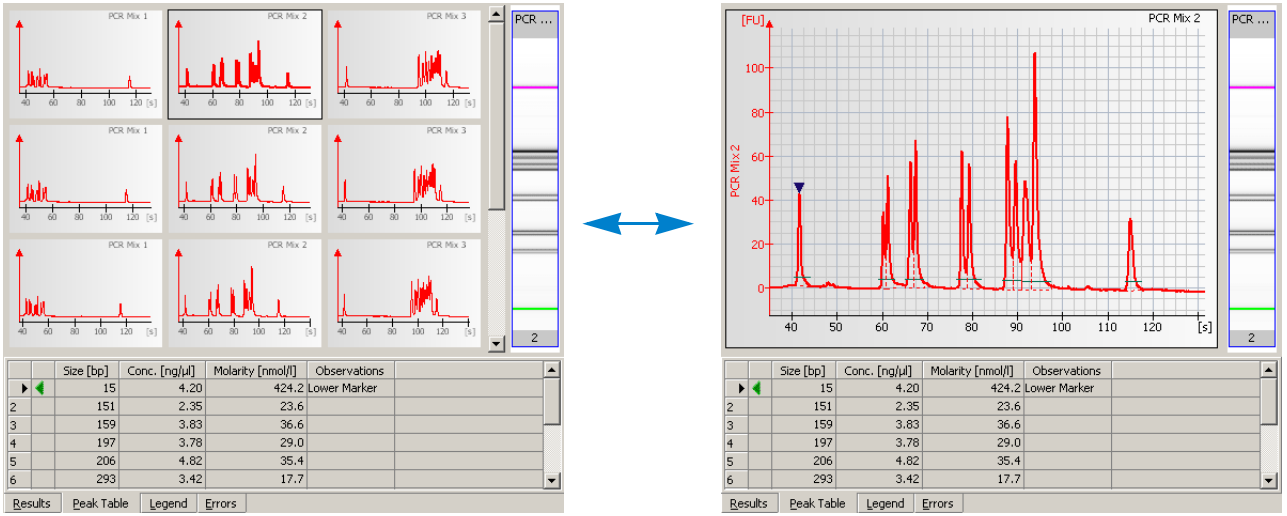
Fare clic sul pulsante *View Single Sample*  (Visualizza un singolo campione) o *View All Samples*  (Visualizza tutti i campioni) sulla barra degli strumenti *Electropherogram* (Elettroferogramma).

– OPPURE –

Fare clic sulla voce *All Samples* (Tutti i campioni) sul *Pannello della struttura ad albero* per passare alla visualizzazione a griglia, oppure su un qualsiasi campione per passare alla visualizzazione singola.

– OPPURE –

Fare doppio clic su un qualsiasi elettroferogramma per passare alla visualizzazione singola:



Come navigare tra i vari campioni

In qualsiasi momento - anche durante l'analisi di un chip - è possibile scorrere i campioni - sia in formato elettroferogramma che in formato immagine gel-simile.

Per navigare tra i campioni utilizzare *Pannello della struttura ad albero*:

1. Se non è visibile la struttura, selezionare *View* > *Tree View* (Visualizza > Visualizzazione struttura).

   Il pannello della struttura albero viene visualizzata alla sinistra della scheda e mostra tutti i file con i dati dei chip ed i file di analisi come nodi.

2. Fare clic sul nome di un campione.

   Electropherogram View (Visualizzazione elettroferogramma) l'elettroferogramma del campione selezionato viene visualizzato in visualizzazione singola.

   Gel View (Visualizzazione gel): la linea dell'immagine gel-simile corrispondente al campione selezionato viene evidenziata.

Per navigare tra i campioni utilizzare il *Pannello inferiore*:

1. Se non è visibile il pannello inferiore *View* > *Tree View* (Visualizza > Visualizzazione struttura).

   Il pannello inferiore viene visualizzato nell'angolo in basso a sinistra.

2. Electropherogram View (Visualizzazione elettroferogramma). Fare clic su una linea qualsiasi della piccola immagine gel-simile.
   Gel View (Visualizzazione gel). Fare clic su un pozzetto dell'icona del chip.

Per sfogliare i campioni:

1 Dal menu *Electropherogram* (Elettroferogramma) o *Gel* selezionare *Next Sample* (Campione successivo) o *Previous Sample* (Campione precedente).

– OPPURE –

Fare clic sul pulsante *Next Sample* (Campione successivo) o *Previous Sample* (Campione precedente) sulla barra degli strumenti.

Per passare da elettroferogramma a gel-simile:

1 Fare clic sulla scheda *Electropherogram* (Elettroferogramma) o *Gel* (Immagine gel-simile) per visualizzare i risultati del campione selezionato come elettroferogramma o immagine gel-simile.

Come modificare la visualizzazione degli elettroferogrammi o delle immagini gel-simili

È possibile modificare la visualizzazione degli elettroferogrammi o delle immagini gel-simili.

Sugli elettroferogrammi e sulle immagini gel-simili è possibile:

- Zoomare (ingrandire o ridurre utilizzando il mouse) i grafici, per esempio per visualizzare i dettagli

Inoltre negli elettroferogrammi è possibile:

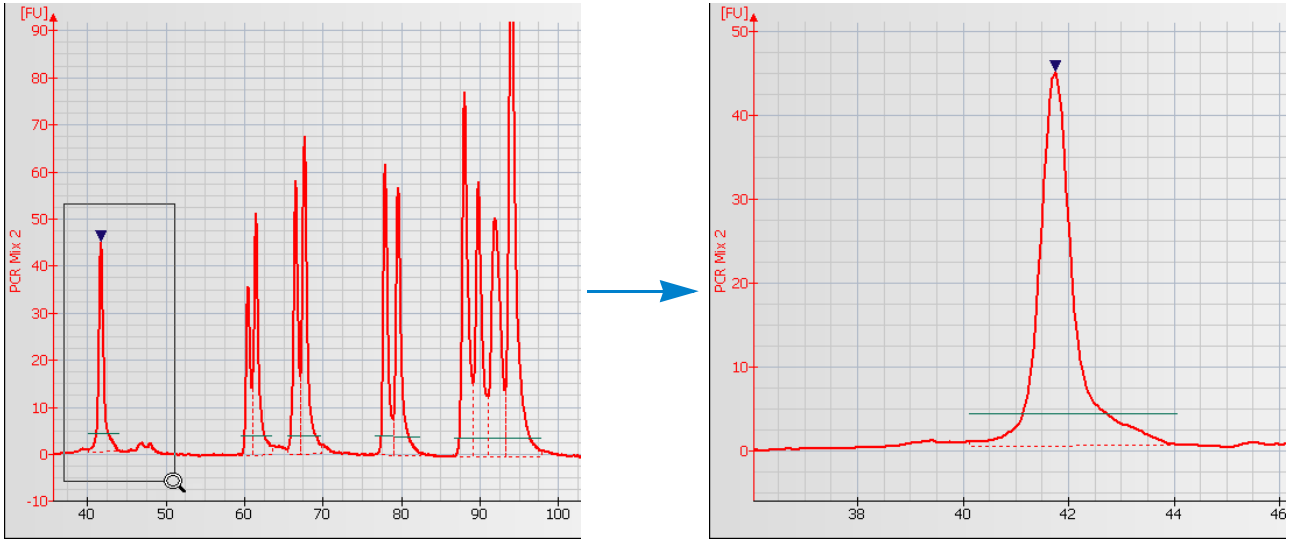
- Mostrare i punti di dati
- Visualizzare una panoramica e ridimensionare il grafico usando il mouse
- Modificare lo sfondo da bianco a gradiente di grigio
- Rimuovere la griglia dagli elettroferogrammi

Sulle immagini gel-simili è possibile inoltre:

- Modificare il colore del gel

Per eseguire lo zoom di un elettroferogramma:

1. Dal menu *Electropherogram* (Elettroferogramma), selezionare *Graph Mode* > *Zoom* (Modalità grafica > Zoom) (impostazione predefinita).
2. Posizionare il puntatore del mouse all'interno dell'elettroferogramma.
3. Fare clic e tenere premuto il pulsante sinistro del mouse.
   Il puntatore del mouse cambia la sua forma in una lente d'ingrandimento  .
4. Trascinare il mouse.
   Un rettangolo mostra la parte dell'elettroferogramma che deve essere ingrandita.
5. Rilasciare il tasto del mouse.



Per eseguire la panoramica e ridimensionare un elettroferogramma:

1. Nel menu *Electropherogram* (Elettroferogramma), selezionare *Graph Mode* > *Pan* (Modalità grafica > Pan) o *Scale* (Ridimensiona).
2. Posizionare il puntatore del mouse all'interno dell'elettroferogramma.
3. Fare clic e tenere premuto il pulsante sinistro del mouse.

   Il puntatore del mouse cambia la sua forma in una doppia freccia o in una doppia croce.

4 Trascinare il mouse.

Trascinando il mouse, la curva dell'elettroferogramma si sposta nella direzione di trascinamento (Modalità *Pan*), oppure si modificano le scale dell'asse X e/o dell'asse Y (Modalità *Scale*).

5 Rilasciare il pulsante del mouse.

È possibile eseguire diversi zoom, panoramiche e ridimensionamenti in sequenza.

Per annullare uno step di esecuzione dello zoom, della panoramica o di ridimensionamento:

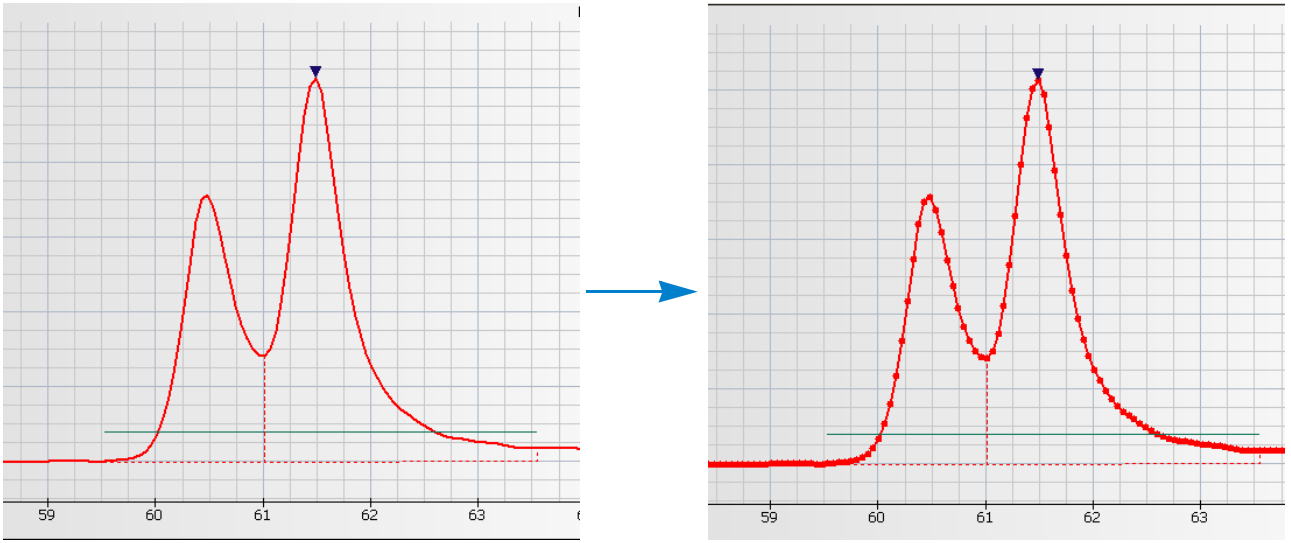
1 Fare clic sul pulsante *Undo Zoom*  (Annulla zoom) oppure fare doppio clic sull'elettroferogramma.

Per annullare tutti gli step di esecuzione dello zoom, della panoramica o di ridimensionamento:

1 Fare clic sul pulsante *Undo All*  (Annulla tutto).

Per visualizzare i punti dei dati negli elettroferogrammi:

1 Dal menu *Electropherogram* (Elettroferogramma), selezionare *Show Data Points* (Mostra punti dei dati) oppure fare clic sul pulsante sulla barra degli strumenti.



I punti dei dati utilizzati per generare il grafico vengono ora mostrati come punti. I punti di dati sono distanti 0,05 secondi uno dall'altro.

Per mettere un gradiente di colore sullo sfondo dell'elettroferogramma:

1 Sul menu *Electropherogram* (Elettroferogramma), selezionare *Show Gradient* (Mostra gradiente).

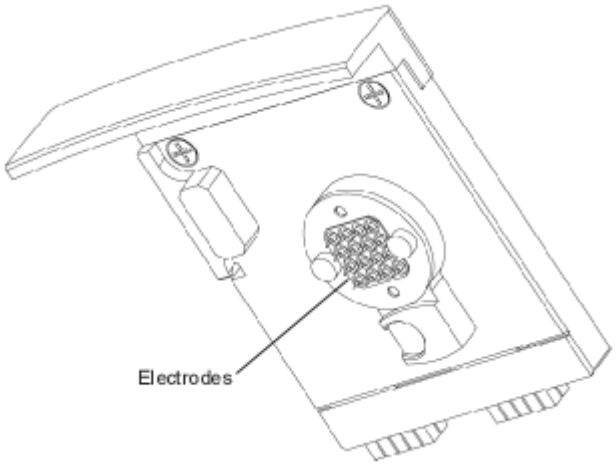
Un gradiente di colore (da grigio a bianco) visualizzato sullo sfondo dei grafico.

Per mostrare/nascondere le linee della griglia di un elettroferogramma:

1 Nel menu *Electropherogram* (Elettroferogramma), selezionare *Show Gradient* (Mostra gradiente).

Pulizia degli elettrodi dopo un'analisi elettroforetica

Quando l'analisi è completata, rimuovere il chip usato dal bioanalizzatore e smaltirlo secondo le linee guida stabilite dal responsabile della sicurezza del proprio laboratorio. Rimuovere il chip velocemente per impedire l'accumulo sugli elettrodi di residui della soluzione.



Eseguire quindi la procedura di pulizia per assicurare che gli elettrodi siano puliti (cioè che siano privi di residui lasciati da analisi precedenti). Le procedure di pulizia sono descritte nella *Guida del kit reagenti* e nella *Guida alla manutenzione e risoluzione dei problemi del Bioanalizzatore Agilent 2100*.

Buone pratiche di laboratorio

- Svuotare e riempire il pulitore degli elettrodi ad intervalli regolari (ad esempio ogni cinque analisi).
- Il pulitore degli elettrodi può essere utilizzato per 25 analisi.

ATTENZIONE

Non utilizzare mai uno straccio per pulire gli elettrodi. Le cariche elettrostatiche potrebbero danneggiare gli alimentatori ad alta tensione.

ATTENZIONE

Gli elettrodi bagnati possono causare gravi danni agli alimentatori ad alta tensione interni. Assicurarsi sempre che gli elettrodi siano completamente asciutti prima di inserirli di nuovo nel bioanalizzatore.

Analisi e valutazione dei risultati di un'analisi elettroforetica

Lo scopo delle analisi elettroforetiche è di calcolare le dimensioni e la concentrazione di frammenti di acidi nucleici. I risultati per uno specifico campione vengono calcolati dopo che sono stati letti tutti i dati relativi a quel campione.

I passaggi dell'analisi dei dati differiscono in base al tipo di analisi in uso.

- "Analisi dei dati: DNA" a pagina 105
- "Analisi dei dati: RNA ed acidi nucleici marcati con Cy5" a pagina 111
- "Analisi dei dati: Protein (Proteina)" a pagina 129
- "Analisi di smear" a pagina 134

Ulteriori punti dell'analisi sono:

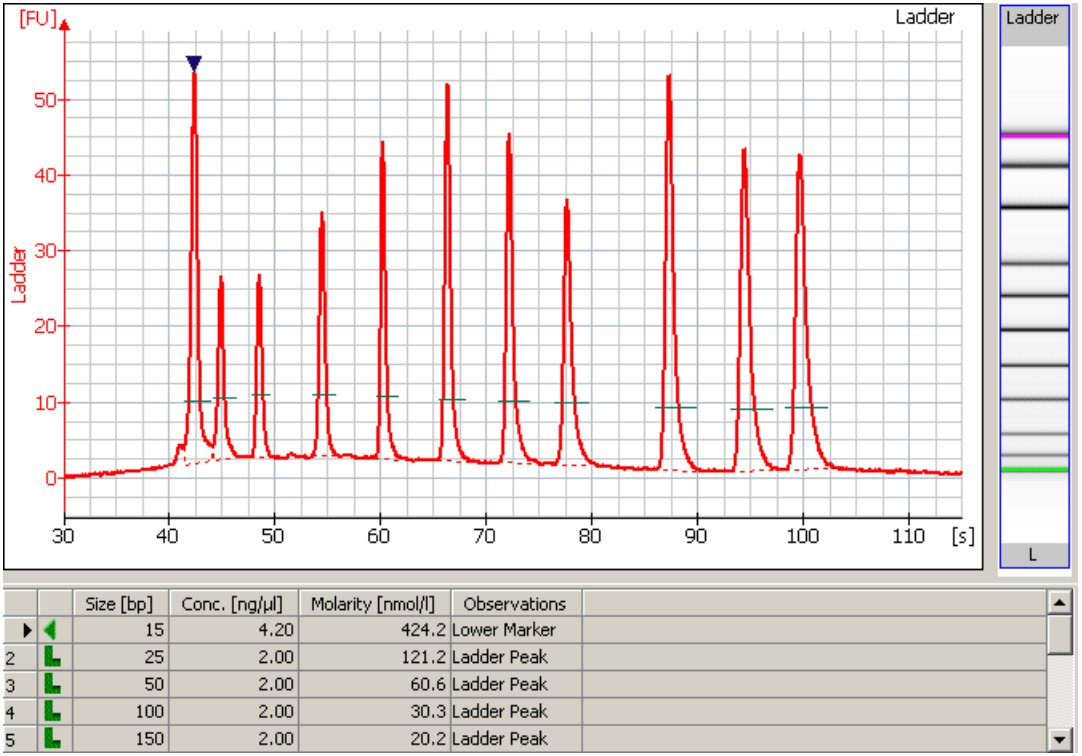
- "Modifica dell'analisi dei dati" a pagina 140
- "Rianalisi di un file di dati del chip" a pagina 167
- "Confronto tra campioni provenienti da differenti analisi del chip" a pagina 169

Analisi dei dati: DNA

Il processo dell'analisi dei dati provenienti da analisi del DNA è costituito dai seguenti punti:

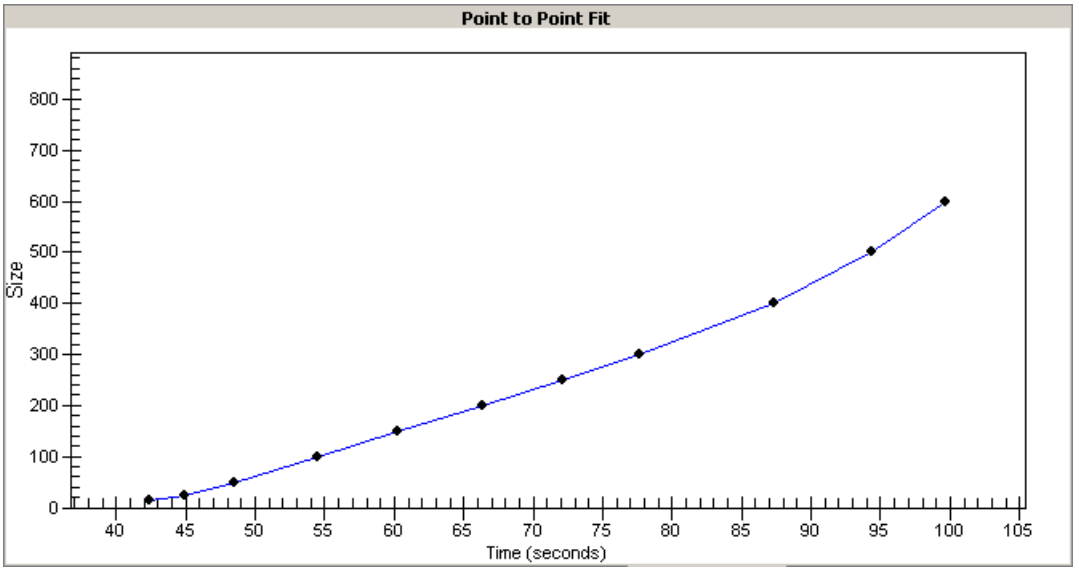
1. I dati grezzi dei singoli campioni vengono letti e memorizzati dal sistema.
2. I dati vengono filtrati e vengono preparati gli elettroferogrammi di tutti i campioni. Dopo l'analisi, è possibile cambiare le impostazioni dell'analisi dei dati e rianalizzare i dati con le nuove impostazioni.
3. Vengono identificati i picchi di tutti i campioni e vengono messi in tabella secondo l'ID del picco. Si possono modificare le impostazioni dell'algoritmo di ricerca dei picchi e rianalizzare i dati al termine dell'analisi (Si ricorda che le impostazioni di ricerca del picco possono essere cambiate per tutti o solo per alcuni campioni.)

4. Per prima cosa si analizza uno standard di dimensionamento (vedere l'elettroferogramma di esempio seguente) costituito da una miscela di frammenti di DNA di dimensioni conosciute e posto nel pozzetto dello standard. Le concentrazioni e le dimensioni delle singole coppie di basi sono preimpostate nell'analisi e non possono essere modificate.

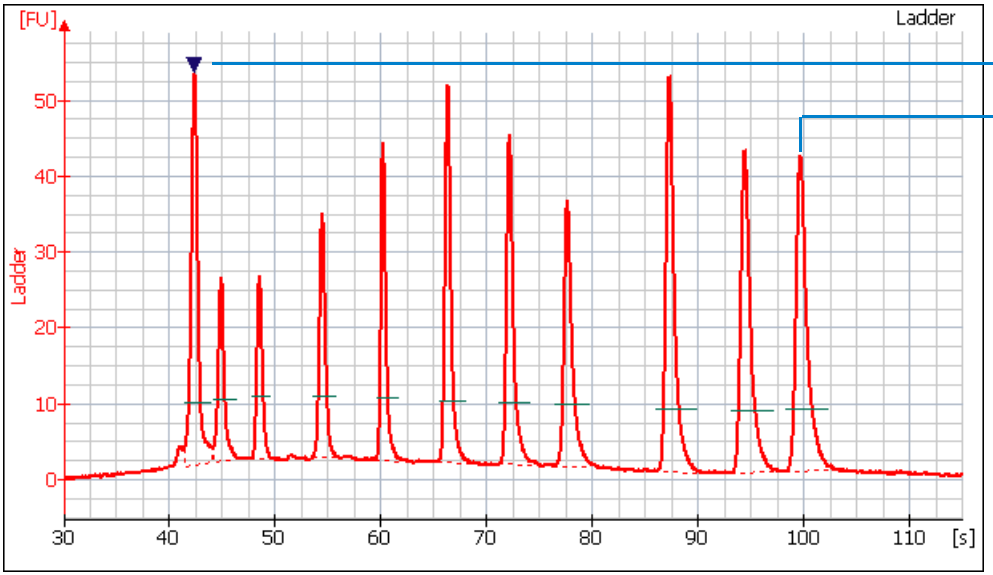


		Size [bp]	Conc. [ng/µl]	Molarity [nmol/l]	Observations
▶	◀	15	4.20	424.2	Lower Marker
2	▙	25	2.00	121.2	Ladder Peak
3	▙	50	2.00	60.6	Ladder Peak
4	▙	100	2.00	30.3	Ladder Peak
5	▙	150	2.00	20.2	Ladder Peak

5. Dal dimensionamento dello standard, viene realizzata una curva dei tempi di migrazione contro la dimensione del DNA per interpolazione della dimensione dei singoli frammenti di DNA/punti di migrazione. La curva standard derivata dai dati del pozzetto dello standard dovrebbe ricordare quella dell'immagine seguente.



6. Due frammenti di DNA vengono analizzati con ognuno dei campioni, circoscrivendo un range di dimensionamento del DNA. I marker "inferiore" e "superiore" sono standard interni utilizzati per allineare i dati dello standard con i dati provenienti dai pozzetti dei campioni. La figura che segue mostra un esempio dei picchi dei marker assegnati in un pozzetto del campione.



NOTA

Il software esegue automaticamente l'allineamento. La disattivazione dell'analisi dei dati (vedere la sezione "Menu Electropherogram (Elettroferogramma)" a pagina 403) interrompe l'analisi dei dati fino a quando viene riattivata.

7. La curva standard, in congiunzione con i marker, viene utilizzata per calcolare le dimensioni dei frammenti di DNA di ogni campione in base al tempo di migrazione misurato.

8. Per calcolare la concentrazione dei singoli frammenti di DNA in tutti i pozzetti dei campioni, il marker superiore, in congiunzione con una curva di calibrazione costruita in base ad una concentrazione specifica per l'analisi contro la dimensione delle coppie di basi, viene applicata ai singoli picchi dei campioni di tutti i pozzetti.

NOTA

Il software consente di ridefinire i picchi scelti come marker superiore ed inferiore. Comunque un cambiamento nella selezione del marker provocherà modifiche quantitative nella procedura di calibrazione, e pertanto nell'intera valutazione dei dati.

---

9. Se la casella di controllo *Rest. Digest* (Restrizione enzimatica) su *Scheda Chip Summary (Riepilogo chip)* è abilitata, il software 2100 expert segnala le situazioni di possibile comigrazione:

		Size [bp]	Conc. [ng/µl]	Molarity [nmol/l]	Observations
1	◀	15	4.20	424.2	Lower Marker
2		22	1.71	116.6	Possible Co-Migration of 4 Peaks
3		55	1.31	35.8	
4		104	4.22	61.3	Possible Co-Migration of 2 Peaks
5		141	3.19	34.4	
6		187	3.87	31.5	
7		235	4.74	30.6	
8		330	6.81	31.3	
9		381	7.99	31.8	
10		476	10.34	32.9	
11		512	9.31	27.6	
12	▶	1,500	2.10	2.1	Upper Marker

Results | Peak Table | Legend | Errors

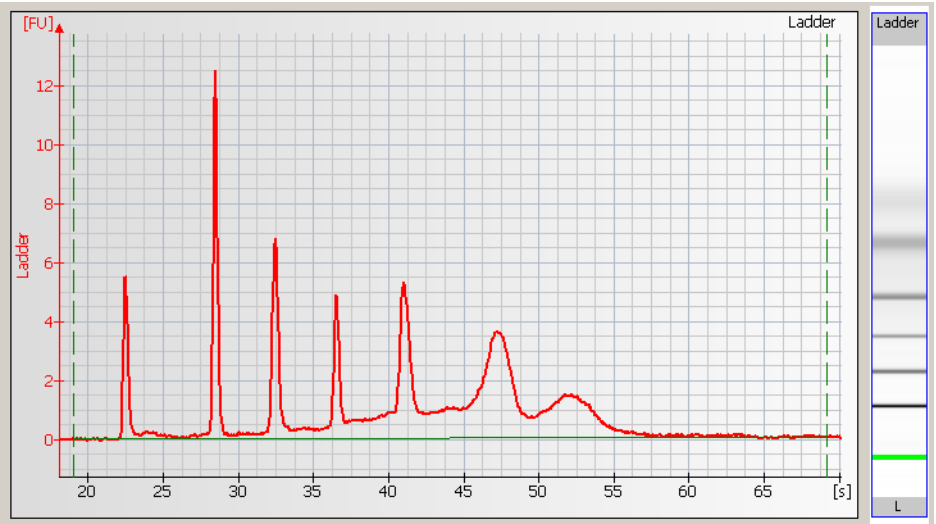
Dato che si assume che la molarità di tutti i frammenti di una restrizione enzimatica sia la stessa, qualsiasi picco o cluster con molarità significativamente superiore al resto viene evidenziato come somma potenziale di picchi comigranti, consentendo di esaminarli più dettagliatamente.

Analisi dei dati: RNA ed acidi nucleici marcati con Cy5

Il processo di analisi dei dati per RNA ed acidi nucleici marcati con Cy5 è costituito dai punti seguenti:

1. I dati grezzi dei singoli campioni vengono letti e memorizzati dal sistema.
2. I dati vengono filtrati e vengono preparati gli elettroferogrammi di tutti i campioni. Dopo l'analisi, è possibile cambiare le impostazioni dell'analisi dei dati e rianalizzare i dati con le nuove impostazioni.
3. Vengono identificati i frammenti di tutti i campioni e vengono messi in tabella secondo l'ID del picco. Si possono modificare le impostazioni dell'algoritmo di ricerca dei picchi per tutti o solo per alcuni dei campioni e rianalizzare i dati al termine dell'analisi.

4. Per prima cosa viene analizzato uno standard di RNA (contenente una miscela di RNA a concentrazione nota), (vedere l'elettroferogramma seguente). Le concentrazioni e le dimensioni delle singole coppie di basi sono preimpostate nell'analisi e non possono essere modificate.



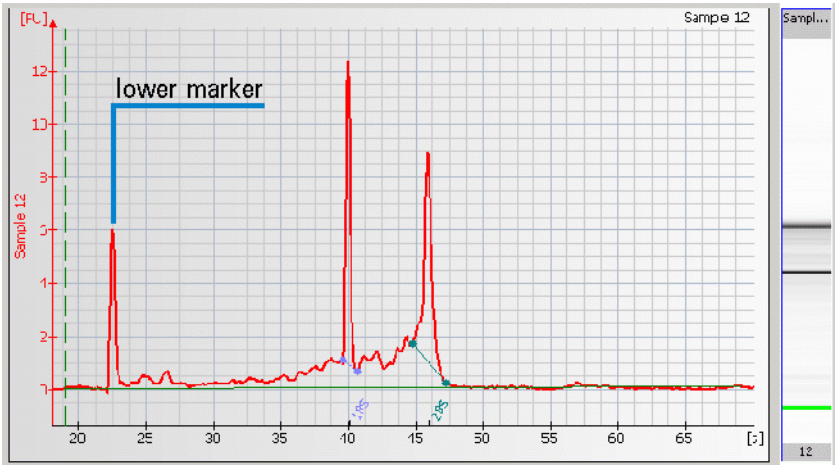
Elettroferogramma dello standard RNA 6000 (Ambion, Inc. cat. no. 7152)

NOTA

Il rapporto tra i picchi dello standard di RNA può variare da un lotto di RNA 6000 all'altro, Le prestazioni dell'analisi non saranno influenzate da questa variazione.

---

5. Per l'analisi dell'RNA eucariota o procariota totale, vengono rilevati i frammenti di RNA (18S e 28S per RNA eucariota e 16S e 23S per RNA procariota). Dopo la rivelazione, viene calcolato e visualizzato il rapporto tra le aree dei frammenti.



6. Per calcolare la concentrazione di RNA, si determina l'area sotto l'intero interferogramma dell'RNA. Si applica quindi lo standard, che fornisce il rapporto concentrazione/area, per trasformare i valori delle aree in valori di concentrazione.

Allineamento dei campioni di RNA

La soluzione di marker contenuta in ogni kit LabChip per RNA, contiene un frammento di DNA da 50 bp. Questo frammento viene utilizzato come marker inferiore per allineare tutti i campioni.

Per le analisi RNA Nano l'allineamento dell'RNA e la sottrazione del marker inferiore sono abilitati per predefinizione.

Il marker viene visualizzato come primo picco dell'interferogramma.

Numero integrità RNA (RIN)

Il numero d'integrità dell'RNA (RIN) è uno strumento studiato per aiutare i tecnici a stimare l'integrità dei campioni di RNA totale. L'estensione RIN assegna automaticamente un numero d'integrità ad un campione di RNA eucariota totale analizzato con il bioanalizzatore 2100 Agilent. Utilizzando questo strumento, l'integrità del campione non viene determinata solo in base al rapporto delle bande ribosomiali, ma in base all'intero tracciato elettroforetico del campione di RNA, prendendo in considerazione anche l'eventuale presenza, o assenza, di prodotti di degradazione. In questo modo, l'interpretazione di un elettroferogramma viene facilitata, è possibile effettuare il confronto dei campioni e la ripetibilità degli esperimenti è assicurata.

Scopo

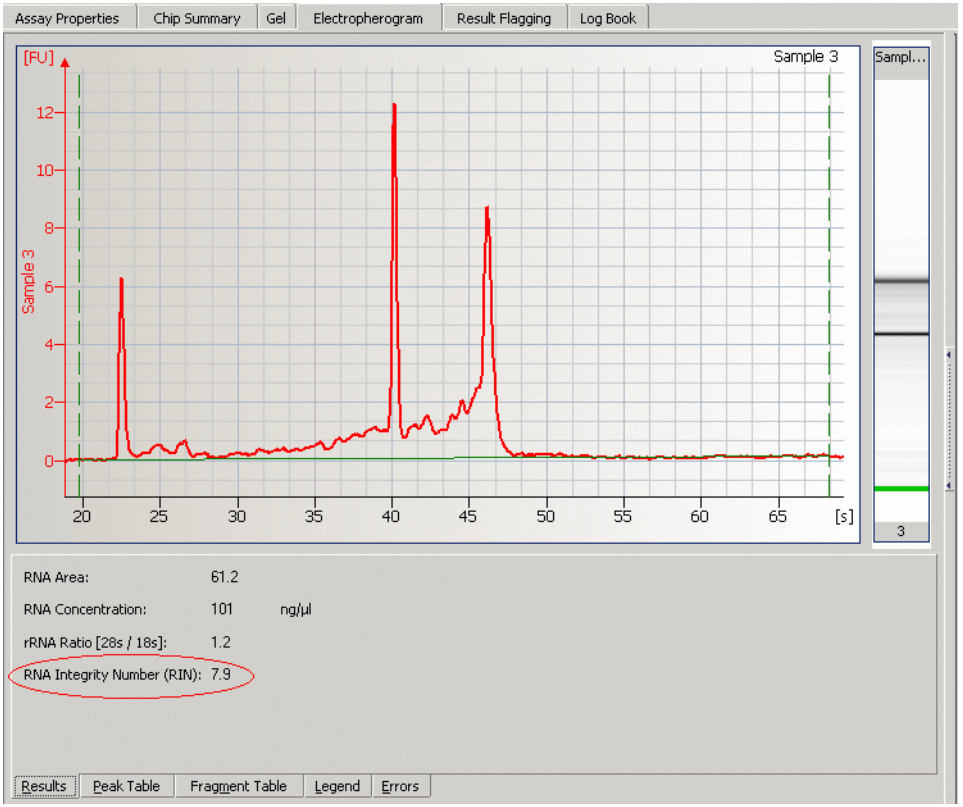
Cosa si può fare con il RIN:

- Ottenere una valutazione dell'integrità dell'RNA.
- Confrontare i campioni di RNA (per esempio prima e dopo la spedizione, confrontare l'integrità dello stesso tessuto tra diversi laboratori, ecc.).
- Assicurare la ripetibilità degli esperimenti (per esempio, se il RIN mostra un dato valore ed è adatto per esperimenti microarray, allora il RIN dello stesso valore può *sempre* essere utilizzato per esperimenti microarray premesso che provenga dallo stesso organismo/tessuto/metodo di estrazione).

Cosa NON è possibile fare:

- Dire ad uno scienziato prima del tempo se un esperimento potrà riuscire se non è stata effettuata la validazione (per esempio, il RIN con valore 5 potrebbe non funzionare per gli esperimenti microarray, ma potrebbe funzionare ottimamente per un esperimento RT-PCR. Ed anche un RIN che potrebbe andare bene per un'amplificazione 3' potrebbe non funzionare per un'amplificazione 5').

Per i campioni dell'RNA totale il calcolo del RIN è una parte dell'analisi dei dati. Il numero d'integrità dell'RNA viene visualizzato nella scheda secondaria *Results* (Risultati) della scheda *Gel* o della scheda *Electropherogram* (Elettroferogramma) del contesto *Data and Assay* (Dati e analisi). Viene incluso anche nei file di esportazione XML e nelle stampe dei report.



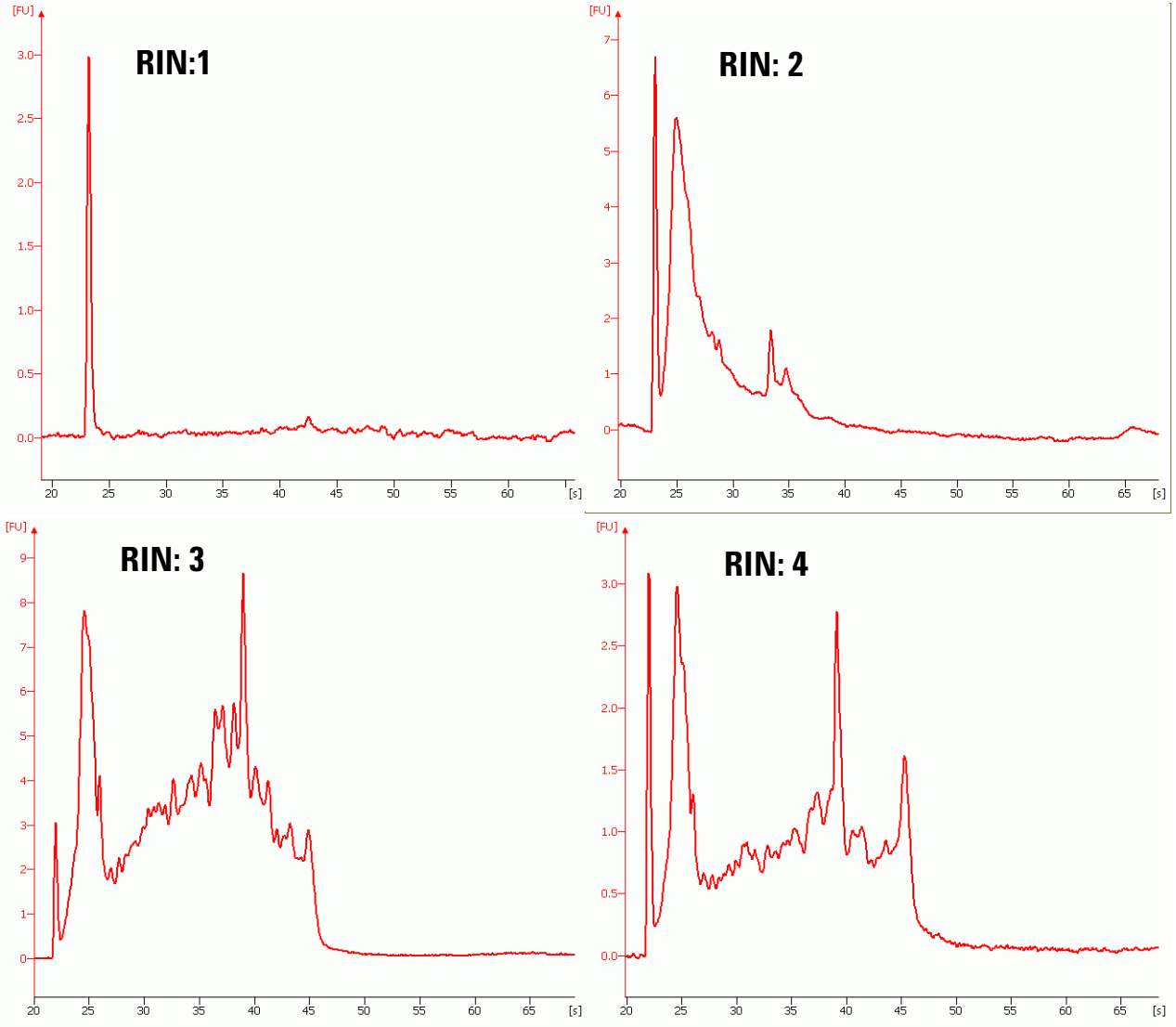
NOTA

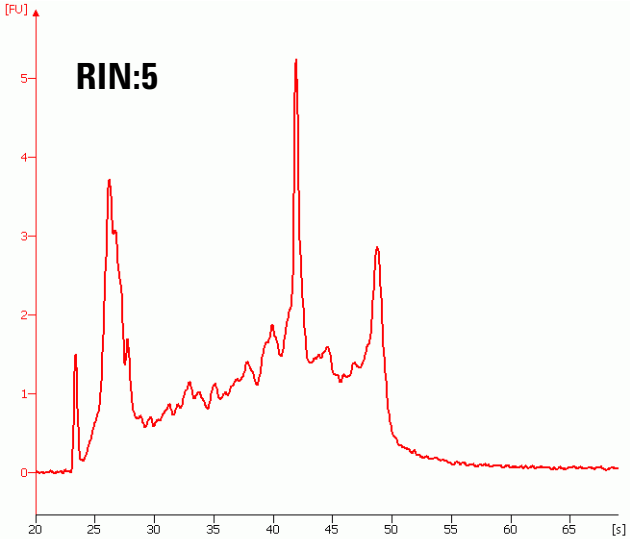
Attualmente il calcolo del RIN è stato validato solo per i campioni di RNA eucariota totale Nano. Il software 2100 expert calcola il RIN anche per i campioni di RNA procariota totale e per l'analisi dell'RNA 6000 Pico. Tenere in considerazione che per questi campioni il RIN non è stato validato in una serie di esperimenti a valle sufficientemente ampia.

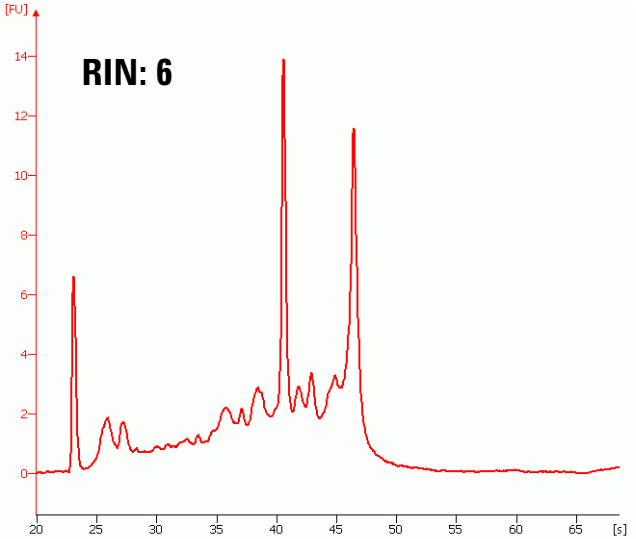
Sebbene il limite quantitativo inferiore dell'analisi RNA 6000 Nano sia specificato a 25 ng/µl, si consiglia di utilizzare almeno 50 ng/µl per un numero d'integrità dell'RNA significativo. Utilizzando concentrazioni inferiori, si possono osservare variazioni più elevate del RIN.

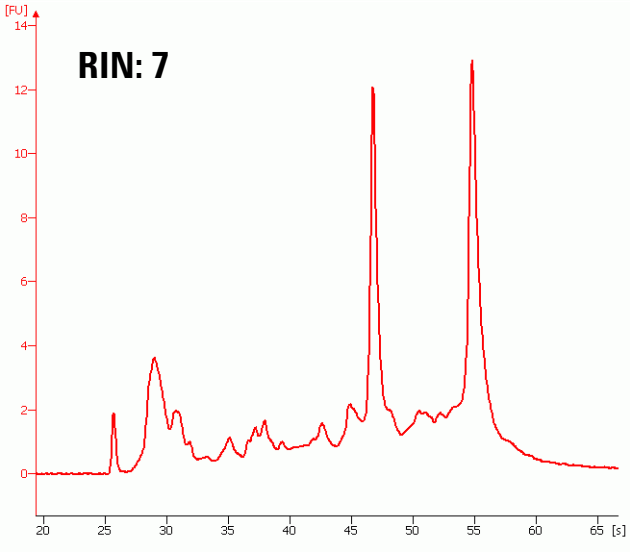
Esempi di numeri d'integrità dell'RNA

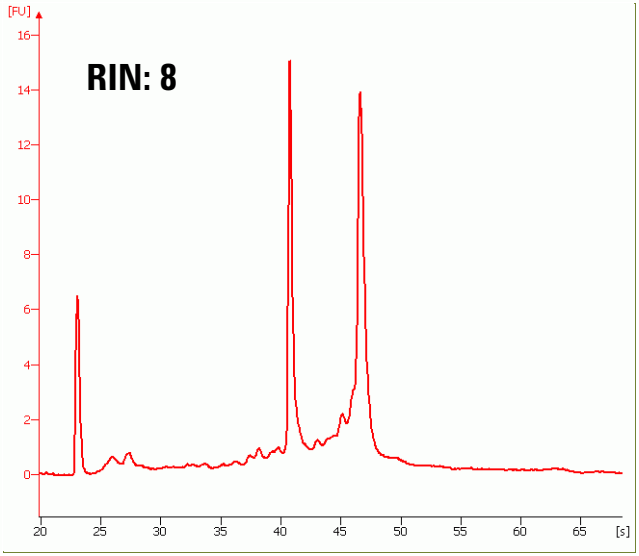
Utilizzando l'analisi RNA 6000 Nano, è stato creato un archivio di circa 1300 campioni di RNA totale di mammiferi, . I campioni provenivano da varie specie (principalmente uomo, ratto e topo), tessuti, metodi di preparazione, concentrazioni e stati di degradazione. Tutti i campioni sono stati classificati in base al loro stato di degradazione. Come etichette sono stati utilizzati i numeri da '1' a '10'. '10' significa un campione di RNA perfetto senza alcun prodotto di degradazione, mentre '1' identifica un campione completamente degradato. Le etichette con i numeri intermedi sono state utilizzate per indicare stati di degradazione progressivi dei campioni di RNA. La figura seguente mostra degli esempi di ognuna delle 10 classi d'integrità dell'RNA.

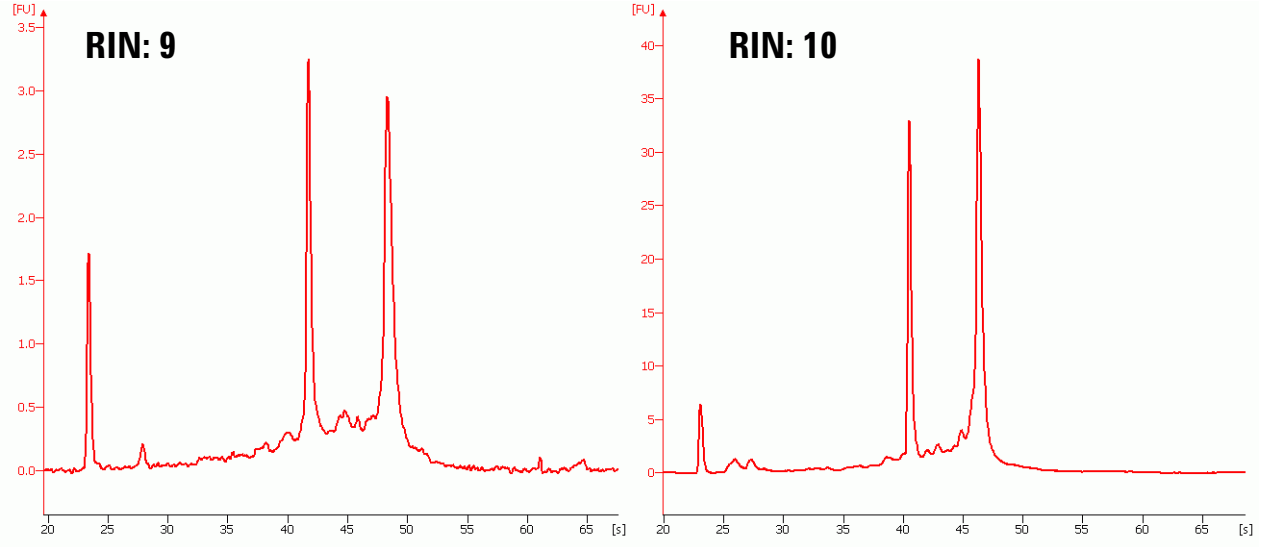

RIN:1
RIN: 2
RIN: 3
RIN: 4
[FU]
[s]


[FU]
RIN:5
[s]


[FU]
RIN: 6
[s]

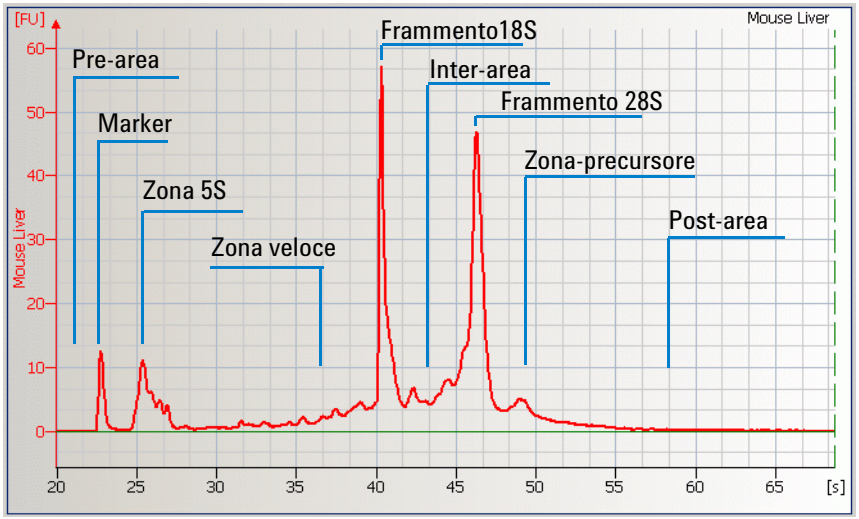

[FU]
RIN: 7
[s]


[FU]
RIN: 8
[s]


RIN: 9
[FU]
3.5
3.0
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
20
25
30
35
40
45
50
55
60
65
[s]
RIN: 10
[FU]
40
35
30
25
20
15
10
5
0
20
25
30
35
40
45
50
55
60
65
[s]

Calcolo delle anomalie del numero d'integrità e del segnale dell'RNA

Per il calcolo del numero d'integrità dell'RNA, l'elettroferogramma viene diviso in zone come mostrato nella figura seguente. Il marker inferiore ed i frammenti 18S e 28S dividono l'elettroferogramma in nove zone:



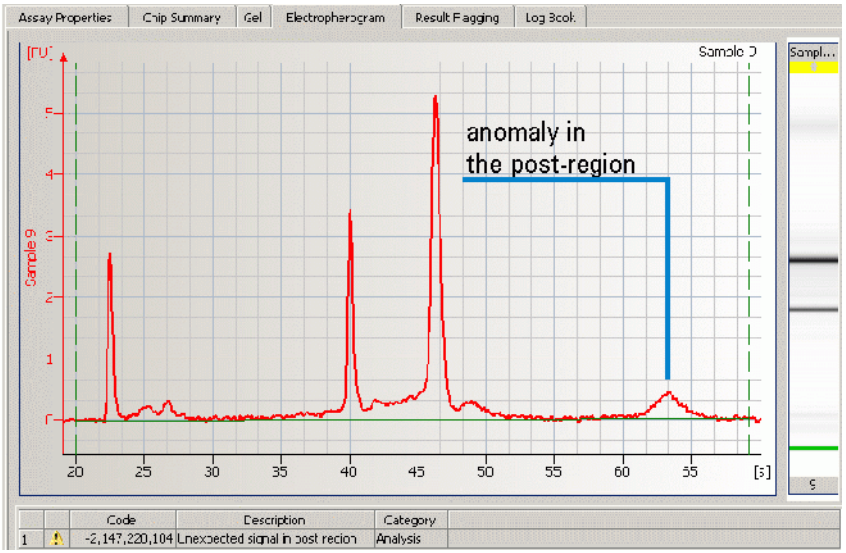
Anomalie del segnale

In aggiunta al calcolo del RIN, l'analisi dei dati rivela diversi segnali inattesi che disturbano il calcolo del RIN. Questi disturbi vengono detti anomalie. Rivelatori di anomalia dell'area riconoscono i segnali inattesi di ogni regione Se rilevate, le anomalie vengono visualizzate nella scheda secondaria *Error* (Errore) della scheda *Electropherogram* (Elettroferogramma) e della scheda *Gel*.

Descrizione dell'anomalia	Critica?
Segnale inatteso della linea di base	Sì
Segnale inatteso nella pre-area	No
Segnale inatteso nell'area 5S	Sì
Segnale inatteso nell'area veloce	Sì
Segnale inatteso nell'area intermedia	Sì
Segnale inatteso nell'area del precursore	No
Segnale inatteso nell'area successiva	No
Rapporto ribosomiale inatteso	Sì
Tipo di campione inatteso	Sì
Marker inferiore inatteso (rispetto al pozzetto precedente)	No

Sono state introdotte due categorie di anomalie, critica e non critica. Le anomalie presenti nelle zone che interferiscono con il campione di RNA dell'utente sono considerate critiche. Vengono visualizzate come errori  e la linea del gel corrispondente viene evidenziata in rosso. Se l'anomalia rilevata non è critica, il RIN può essere ancora calcolato accuratamente. Di conseguenza, le anomalie non critiche vengono visualizzate con un segnale di avviso  e la linea del gel corrispondente viene evidenziata in rosso. Le anomalie di area non critiche sono l'anomalia della pre-area, l'anomalia dell'area del precursore e l'anomalia dell'area successiva. Un'anomalia della linea di base viene rilevata per

segnali fluttuanti o per pendenza della linea di base. L'anomalia del rapporto ribosomiale rivela un rapporto inatteso tra l'area del frammento 28S e quella del frammento 18S. L'anomalia relativa al tipo di campione inatteso viene rilevata per campioni con un profilo dell'RNA totale anomalo rispetto allo standard. L'elettroferogramma seguente mostra un esempio di anomalia non critica nell'area successiva.

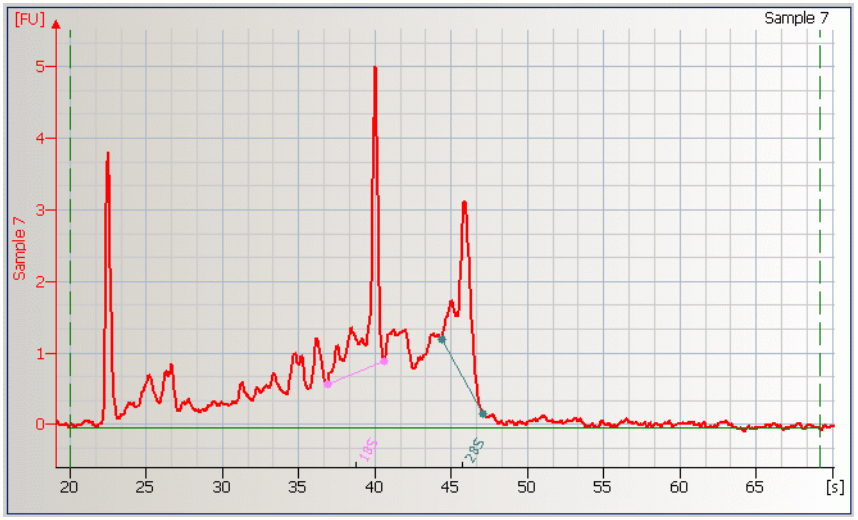


Risoluzione dei problemi del RIN

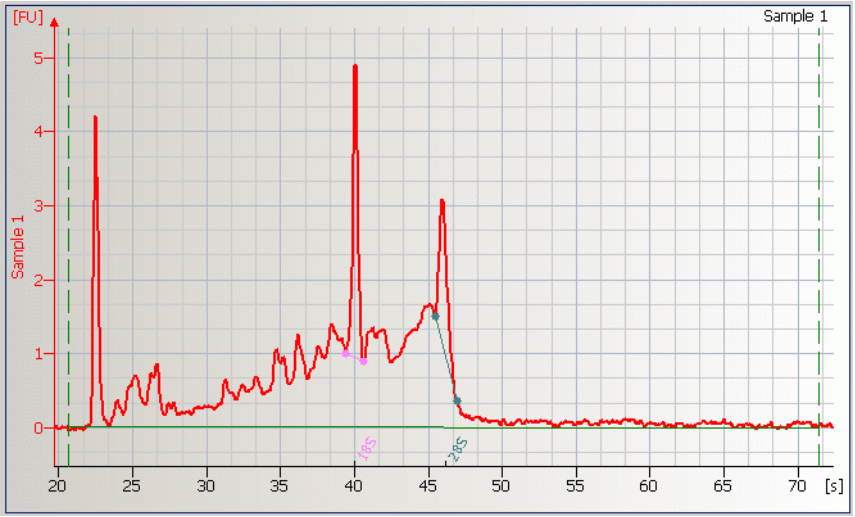
Per ottenere risultati significativi e riproducibili, il marker inferiore e le bande ribosomiali devono essere definiti correttamente. Sebbene l'identificazione dei frammenti ribosomiali sia stata potenziata, in rari casi (per esempio, analizzando campioni di RNA degradati), la linea di base del frammento non è impostata correttamente. In questo caso l'utilizzatore deve regolare manualmente le impostazioni della linea di base.

Esempio

Identificazione "non corretta" da parte del software dei frammenti ribosomiali: RIN=7,2



Numero d'integrità dell'RNA dopo la regolazione manuale: RIN=5,7

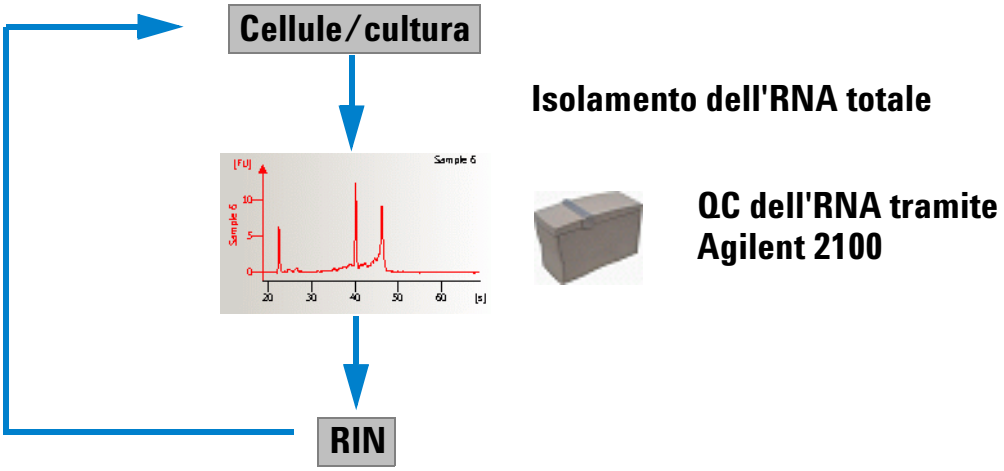


Per informazioni dettagliate sulla regolazione del marker inferiore e delle bande ribosomiali, vedere la sezione “Modifica dell'analisi dei dati” a pagina 140.

Utilizzo di modelli per il numero d'integrità dell'RNA

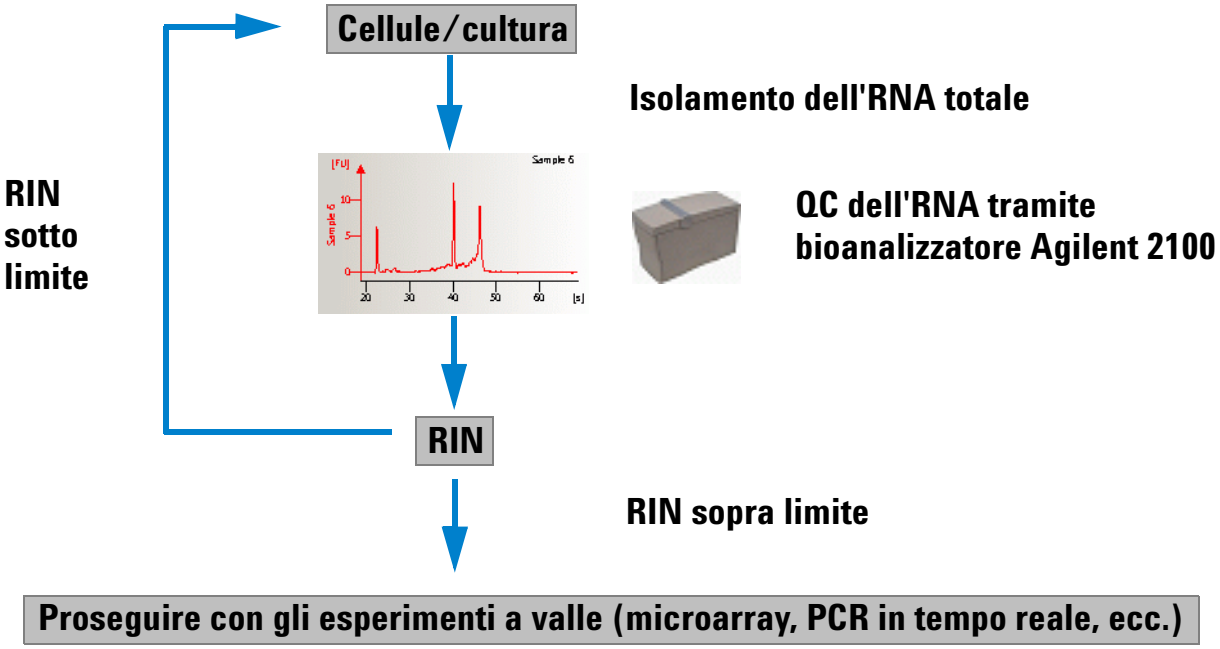
Per utilizzare a pieno i vantaggi della funzione RIN, viene suggerito l'utilizzo di un modello a 2 stadi:

1 Determinare il valore limite per il RIN risultante da esperimenti significativi a valle:



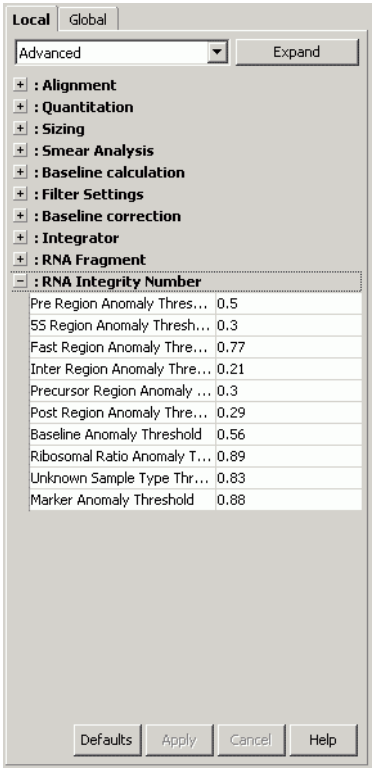
Correlare il RIN con esperimenti a valle e determinare il valore limite per risultati significativi (processo iterativo)

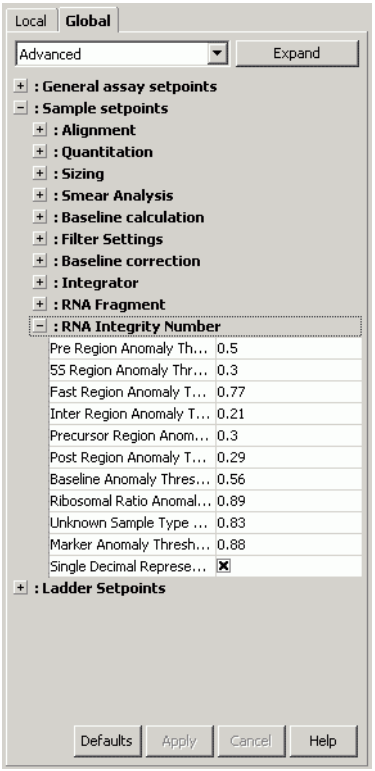
2 Eseguire un esperimento standard ed utilizzare il RIN per determinare se l'integrità del campione è sufficiente:


Cellule/cultura
Isolamento dell'RNA totale
RIN sotto limite
QC dell'RNA tramite bioanalizzatore Agilent 2100
RIN
RIN sopra limite
Proseguire con gli esperimenti a valle (microarray, PCR in tempo reale, ecc.)

Impostazioni del numero d'integrità dell'RNA

In modalità utente avanzata, sono disponibili diversi tipi d'impostazione sul navigatore per personalizzare il calcolo del RIN.





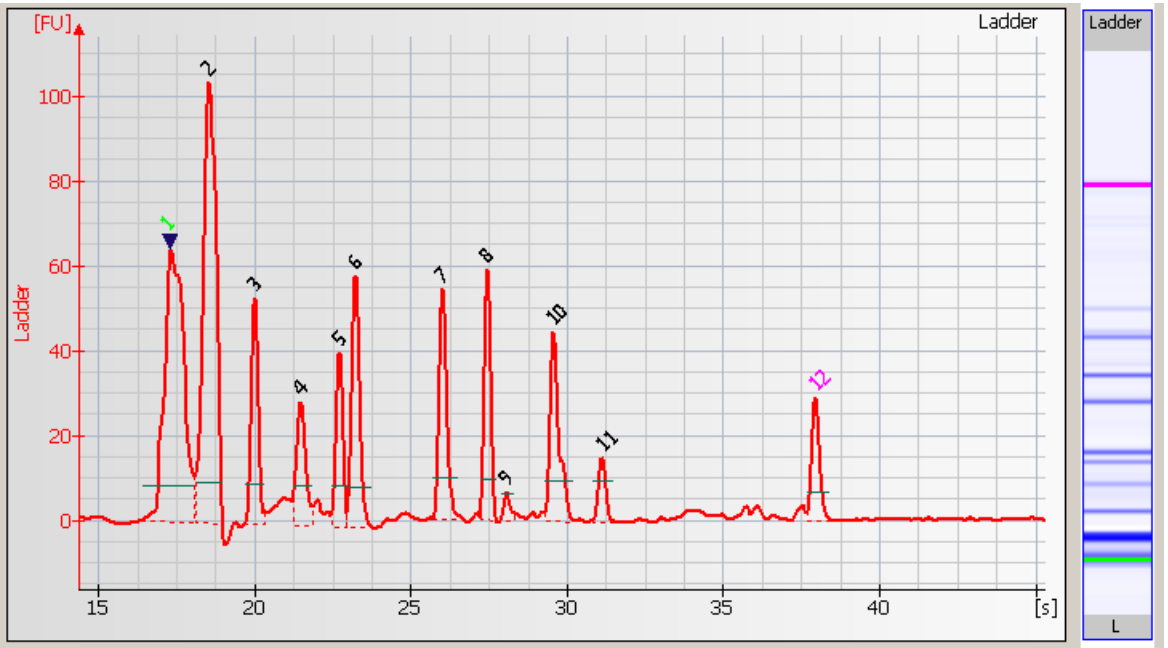
L'utilizzatore può modificare i limiti predefiniti per la rilevazione delle anomalie. Maggiore è il valore limite e minore è il numero di anomalie rilevato. I valori limite validi vanno da 0 a 1. Inoltre, sulla scheda d'impostazione generale, l'utente può passare dalla rappresentazione del RIN con numeri interi a quella con numeri decimali.

Analisi dei dati: Protein (Proteina)

Il processo dell'analisi dei dati provenienti da analisi della proteina è costituito dai seguenti punti:

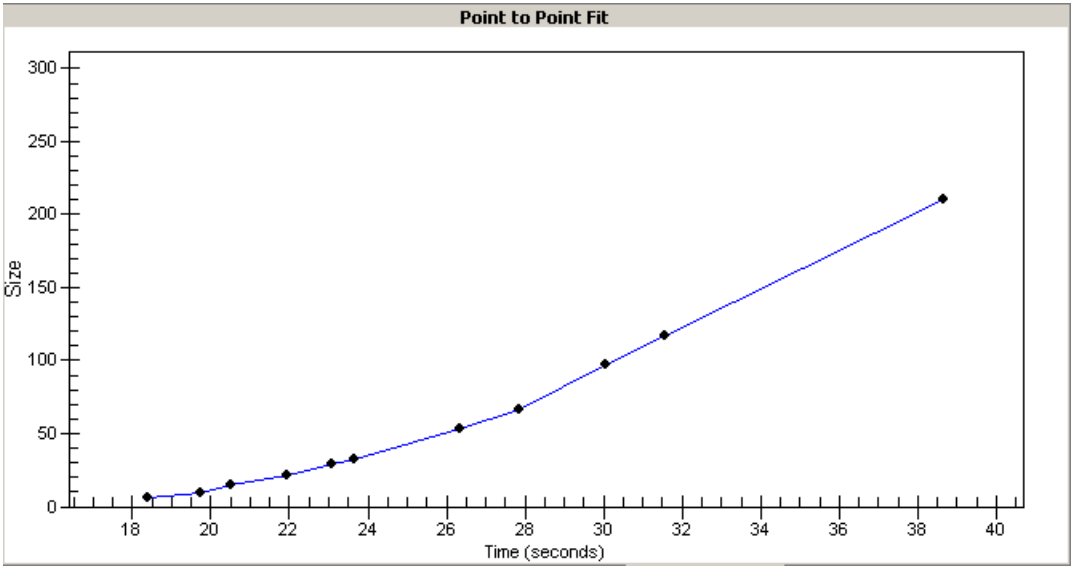
1. I dati grezzi dei singoli campioni vengono letti e memorizzati dal sistema.
2. I dati vengono filtrati e vengono preparati gli elettroferogrammi di tutti i campioni. Dopo l'analisi, è possibile cambiare le impostazioni dell'analisi dei dati e rianalizzare i dati con le nuove impostazioni.
3. Vengono identificati i picchi di tutti i campioni e vengono messi in tabella secondo l'ID del picco. Si possono modificare le impostazioni dell'algoritmo di ricerca dei picchi e rianalizzare i dati al termine dell'analisi (Si ricorda che le impostazioni di ricerca del picco possono essere cambiate per tutti o solo per alcuni campioni.)

4. Per prima cosa si analizza uno standard di dimensionamento (vedere l'elettroferogramma di esempio seguente) costituito da una miscela di proteine di dimensioni diverse e conosciute e posto nel pozzetto dello standard. Le concentrazioni e le dimensioni delle singole proteine sono preimpostate nell'analisi come kDa e non possono essere modificate.

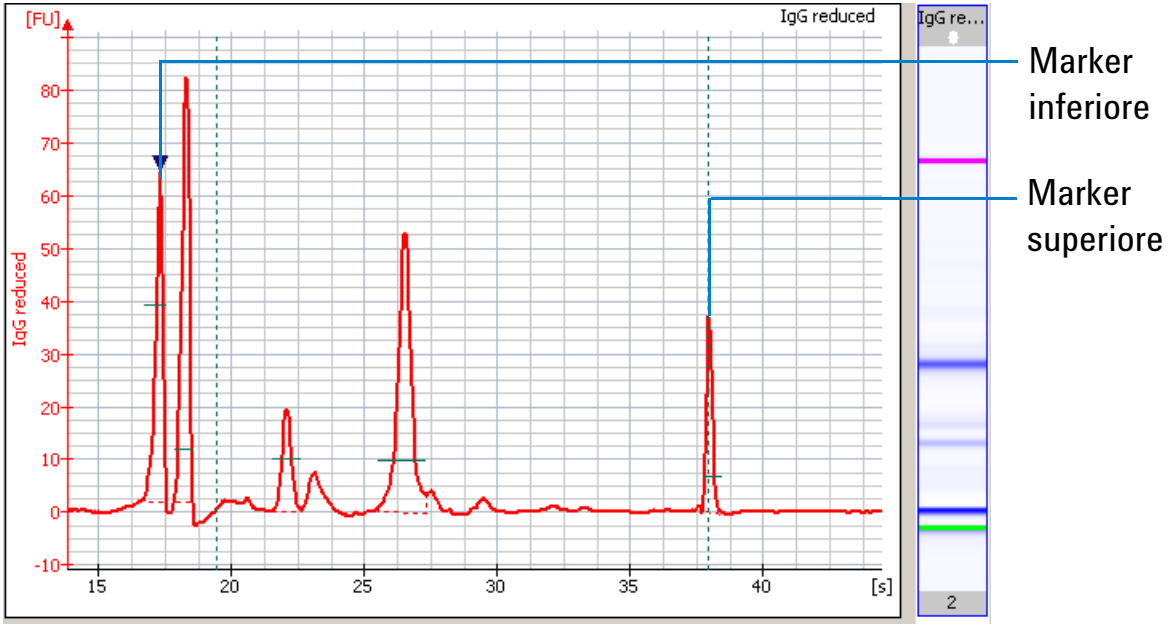


		Size [kDa]	Observations
▶		6.0	Lower Marker
2		9.0	Ladder Peak
3		14.4	Ladder Peak
4		21.5	Ladder Peak
5		29.0	Ladder Peak
6		32.5	Ladder Peak
7		53.0	Ladder Peak
8		66.7	Ladder Peak

5. In base allo standard di dimensionamento, viene realizzata una curva dei tempi di migrazione contro la dimensione per interpolazione delle singole dimensioni delle proteine/punti di migrazione. La curva standard derivata dai dati del pozzetto dello standard dovrebbe ricordare quella dell'immagine seguente.



6. Due frammenti proteine vengono analizzate con ognuno dei campioni, circoscrivendo un range di dimensioni. Le proteine del marker "inferiore" e "superiore" sono standard interni utilizzati per allineare i dati dello standard con i dati provenienti dai pozzetti dei campioni. La figura sottostante mostra un esempio dei picchi dei marker assegnati in un pozzetto del campione.



		Size [kDa]	Rel. Conc. [µg/ml]	Calib. Conc. [µg/ml]	% Total	Observations	Area
1	◀	6.0	0.0	0.0	0.0	Lower Marker	19.9
2		8.5	0.0	0.0	0.0	System Peak	27.5
3		25.3	140.7	0.0	23.7		8.5
4		58.1	451.7	0.0	76.3		32.6
5	▶	210.0	100.0	0.0	0.0	Upper Marker	10.3

NOTA

Il software esegue automaticamente l'allineamento. La disattivazione dell'analisi dei dati (vedere “Menu Electropherogram (Elettroferogramma)” a pagina 403) sospende l'analisi dei dati fino a quando viene riattivata.

7. La curva standard, in congiunzione con i marker, viene utilizzata per calcolare le dimensioni delle proteine di ogni campione in base al tempo di migrazione misurato.
8. Per calcolare la concentrazione delle singole proteine in tutti i pozzetti dei campioni, il marker superiore, in congiunzione con una curva di calibrazione costruita in base ad una concentrazione specifica per l'analisi, viene applicata ai singoli picchi dei campioni di tutti i pozzetti.

NOTA

Il software consente di definire il marker superiore ed inferiore. Comunque un cambiamento nella selezione del marker provocherà modifiche quantitative nella procedura di calibrazione, e pertanto nell'intera valutazione dei dati.

Analisi di smear

Il software 2100 expert consente di eseguire l'analisi di smear per tutte le analisi elettroforetiche.

Quando l'analisi di smear è abilitata, il software consente di definire le zone d'interesse. Queste zone vengono utilizzate per definire l'area di picchi larghi e determinare la parte di area totale di loro appartenenza. L'analisi di smear fornisce un mezzo per analizzare segnali larghi che possono essere difficilmente valutati con la normale assegnazione dei picchi.

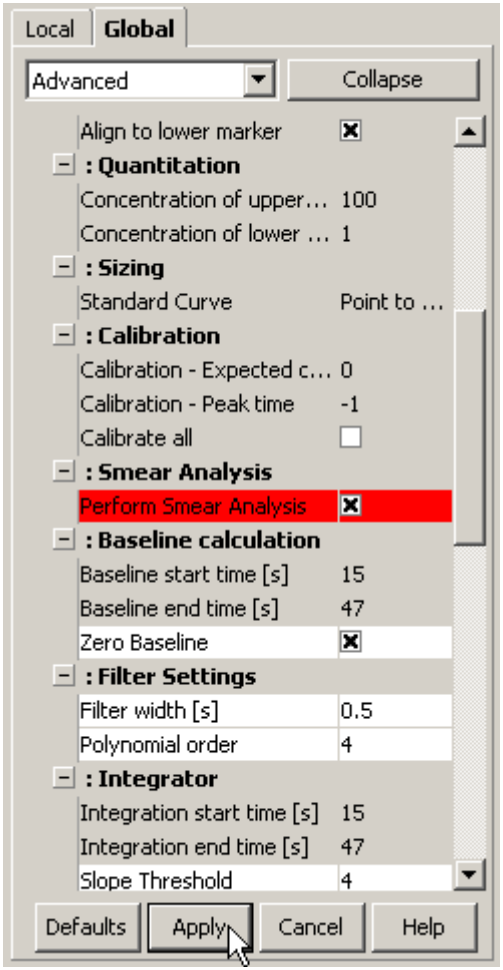
Pertanto è possibile definire zone d'interesse che contengono i picchi (dimensione coppia di basi) che si desidera prendere in considerazione. Per queste zone è possibile determinare l'area coperta in relazione all'area totale.

Abilitazione dell' analisi di smear

Per abilitare l'analisi di smear:

1. Passare alla scheda *Electropherogram* (Elettroferogramma) nel contesto *Data and Assay* (Dati e analisi).
2. Passare al navigatore delle impostazioni e selezionare la scheda *Local* (Locale) o *Global* (Globale), in base al campione che si deve analizzare.
3. Selezionare la modalità *Advanced* (Avanzata).

4 In *Smear Analysis* (Analisi di smear) selezionare la cartella *Perform Smear Analysis* (Esegui analisi di smear).



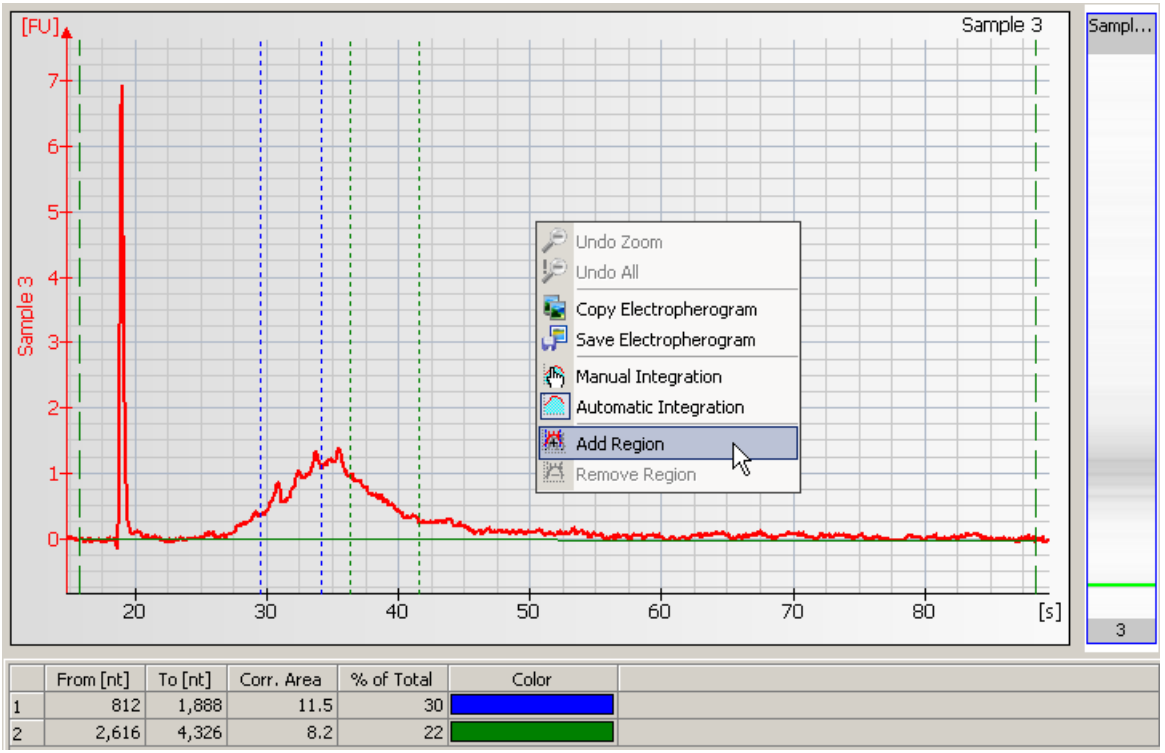
5 Facendo clic sul pulsante *Apply* (Applica) le modifiche diventano effettive.

Esecuzione dell' analisi di smear

Dopo aver abilitato l'analisi di smear sul navigatore delle impostazioni, è possibile inserire le zone d'interesse nell'elettroferogramma.

Per effettuare questa operazione:

1. Selezionare la scheda secondaria *Region Table* (Tabella zone) nella scheda *Electropherogram* (Elettroferogramma).
2. Fare clic con il pulsante destro sull'elettroferogramma e selezionare *Add region* (Aggiungi area).



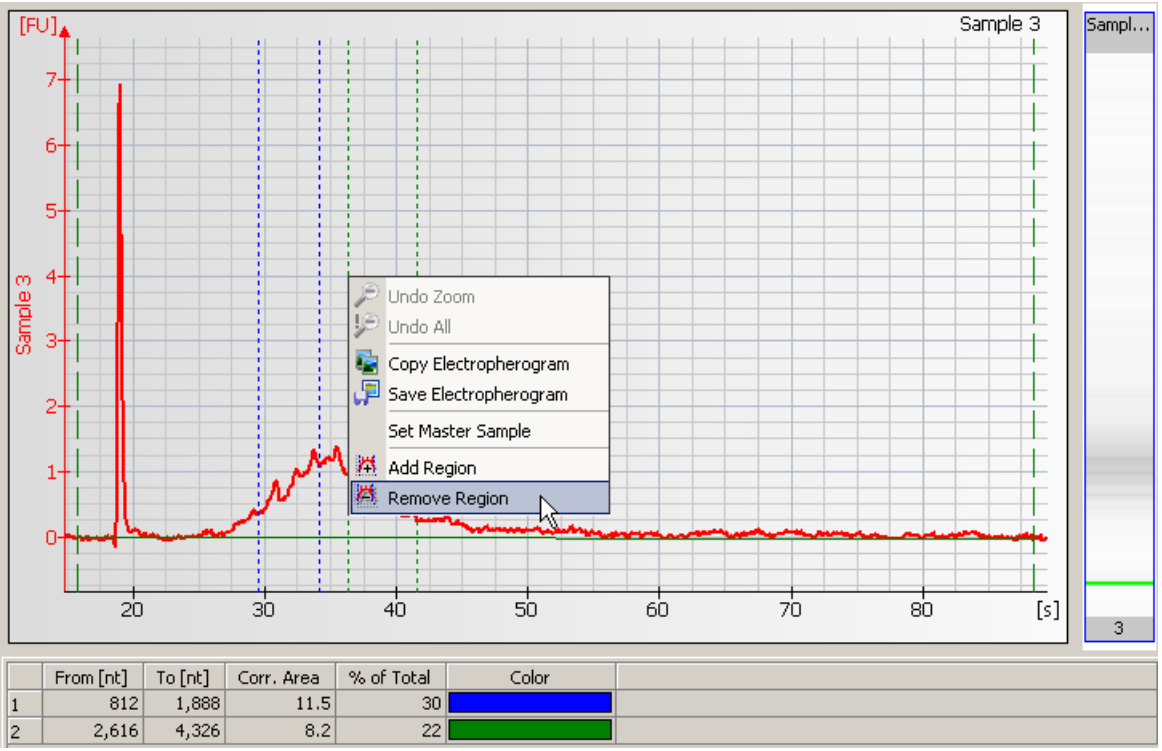
	From [nt]	To [nt]	Corr. Area	% of Total	Color
1	812	1,888	11.5	30	
2	2,616	4,326	8.2	22	

Verrà inserita un'area nell'elettroferogramma. La *Region Table* (Tabella aree) visualizza i valori delle aree inserite.

3 Ripetere le operazioni descritte ai punti precedenti fino ad avere inserito il numero di zone richiesto.

4 Regolare le zone spostando direttamente le linee tratteggiate sull'elettroferogramma.

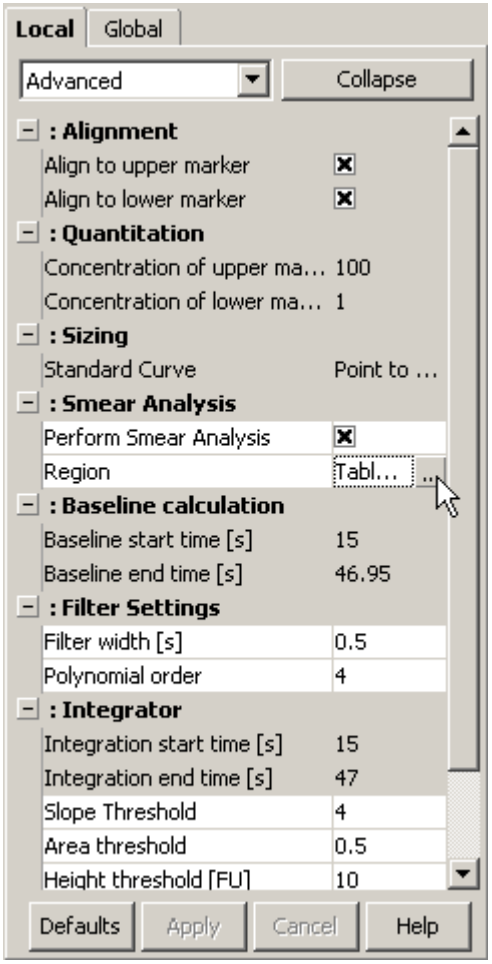
5 Per rimuovere una regione, fare clic con il pulsante destro sulla linea tratteggiata all'interno dell'elettroferogramma e selezionare *Remove Region* (Rimuovi area) sul menu del contesto.



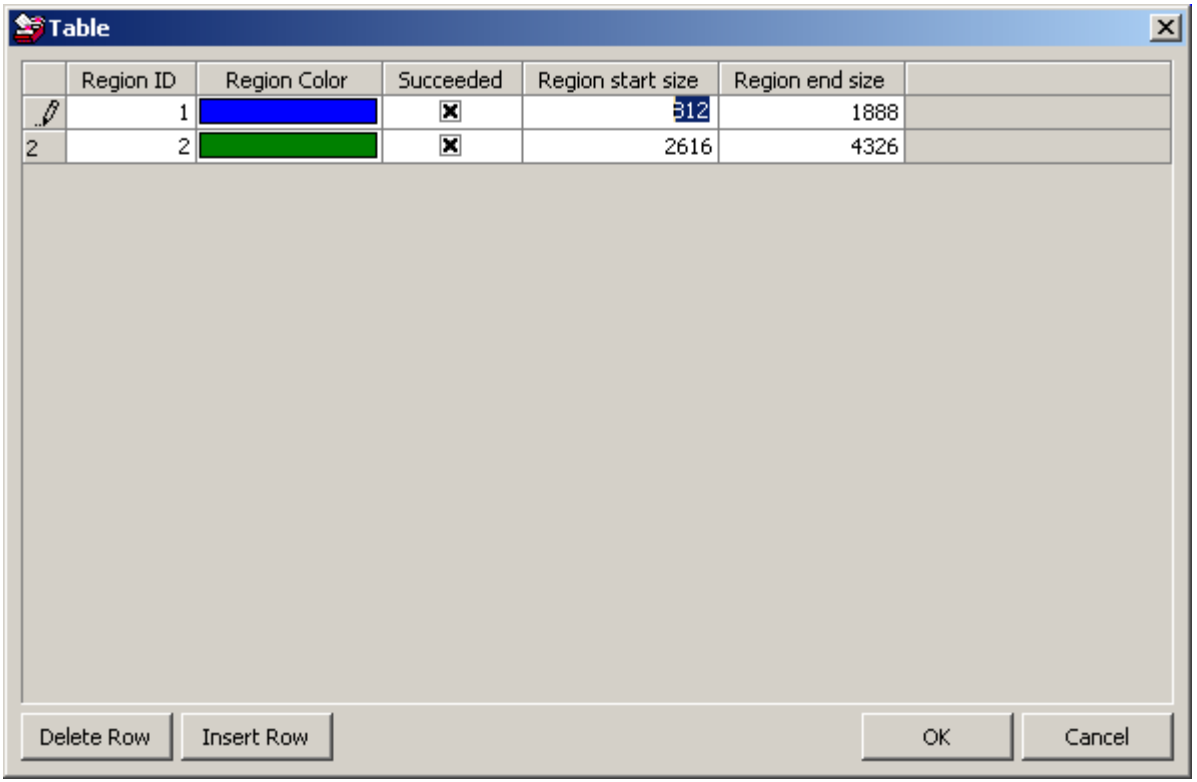
	From [nt]	To [nt]	Corr. Area	% of Total	Color
1	812	1,888	11.5	30	
2	2,616	4,326	8.2	22	

NOTA

La tabella dell'analisi di smear può essere modificata selezionando la tabella delle aree sotto *Smear Analysis* (Analisi di smear) sul navigatore delle impostazioni.



Sulla tabella dell'analisi di smear, per esempio è possibile modificare la *Region Start Size* (Dimensione iniziale area) e la *Region End Size* (Dimensione finale area):



Modifica dell'analisi dei dati

Nel software diverse serie di parametri (impostazione analisi dati) possono essere cambiate allo scopo di modificare la valutazione dei dati derivanti dall'analisi del campione.

Per tutte le analisi:

- Parametri del filtro
- Parametri di ricerca dei picchi per tutti i campioni/altezza del picco per singoli campioni
- Abilitazione dell' analisi di smear
- Allineamento al marker superiore e/o inferiore

Solo per l'analisi dell'RNA:

- Aggiunta/eliminazione di frammenti ribosomiali

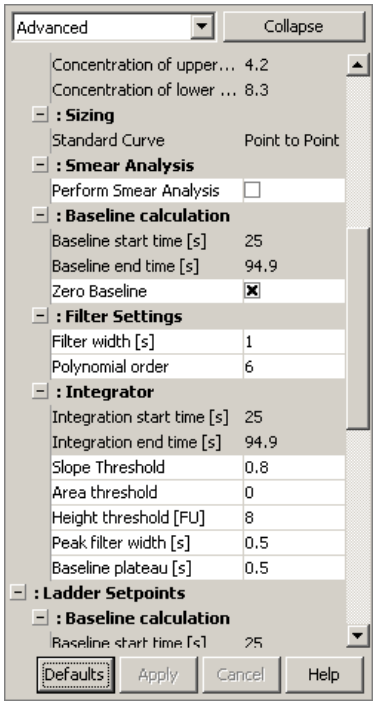
Queste impostazioni possono essere effettuate prima dell'avvio di una nuova analisi o della rianalisi di file di dati salvati precedentemente.

Informazioni sul navigatore delle impostazioni

Lo strumento che consente di modificare le impostazioni delle analisi dei dati p detto *Setpoint Explorer* (Navigatore delle impostazioni). Il navigatore delle impostazioni è accessibile dai seguenti punti:

- *Scheda Assay Properties (Proprietà d'analisi)*
- *Scheda Electropherogram (Single/Grid View) (Elettroferogramma (Visualizzazione singola/griglia))*
- *Scheda Gel*

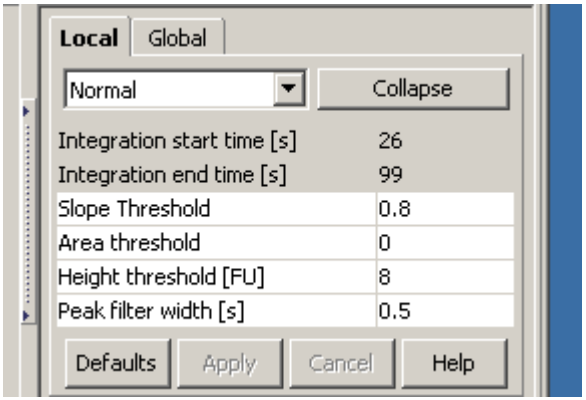
Nella scheda *Assay Properties* (Proprietà d'analisi) il navigatore delle impostazioni è sempre visibile e consente di modificare le impostazioni *globalmente* (per tutti i campioni):



Per visualizzare il navigatore delle impostazioni, nella scheda *Electropherogram/Gel* (Elettroferogramma/gel), fare clic sulla barra verticale sul lato destro della finestra dell'applicazione:



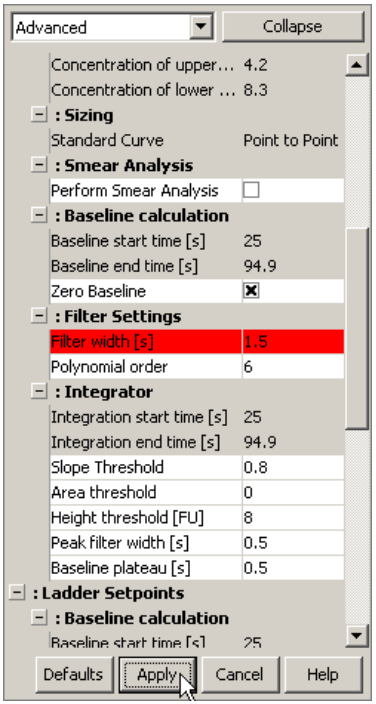
Viene visualizzato il navigatore delle impostazioni.



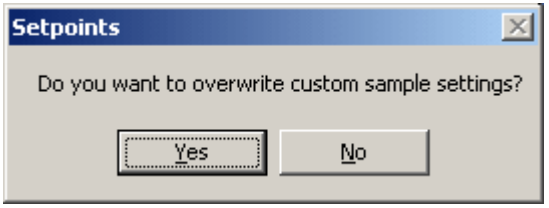
Per le analisi elettroforetiche, è possibile modificare le impostazioni

- Sia *globalmente*, cioè, per tutti i campioni (scheda *Global*),
- Che *localmente*, solo per il campione corrente (scheda *Local*).

Fare clic sui nodi + per espandere e sui nodi - per chiudere i rami. Le impostazioni modificabili sono quelle in bianco. Per modificare un'impostazione, fare doppio clic sul valore, inserire il nuovo valore e premere invio. I valori modificati appaiono in rosso (fino a che vengono applicati):



La modifica di impostazioni globali mentre sono applicate impostazioni locali apre una finestra di dialogo che chiede se si desidera ignorare le impostazioni personalizzate del campione.



Scegliendo *Yes* (Si), si provoca l'annullamento di tutte le impostazioni dei singoli campioni e l'applicazione globale delle modifiche a tutti i campioni. Scegliendo *No* i singoli campioni manterranno le impostazioni modificate.

Impostazioni del filtro

La prima operazione che il software esegue nell'analisi dei dati grezzi è l'applicazione del filtro. Possono essere modificate le seguenti impostazioni del filtro:

Filter Width (Ampiezza del filtro)	Definisce la finestra di dati, in secondi, utilizzata per calcolare la media. Maggiore è l'ampiezza del filtro e maggiore è il numero di dati grezzi utilizzati per calcolare la media. Come risultato, il livello del rumore diminuisce, ma i picchi diventano più bassi e più larghi. In pratica, la modifica dell'ampiezza del filtro ha un effetto maggiore sul risultato della procedura di applicazione del filtro rispetto alla modifica dell'ordine polinomiale.
Polynomial Order (Ordine polinomiale)	Questa impostazione viene utilizzata per definire le serie di potenze da applicare che meglio si adatti ai dati grezzi. Maggiore è il numero e più la funzione seguirà la curva dei dati grezzi con rumore elevato. Come risultato il livello del rumore della curva filtrata aumenterà.

Impostazioni di ricerca dei picchi

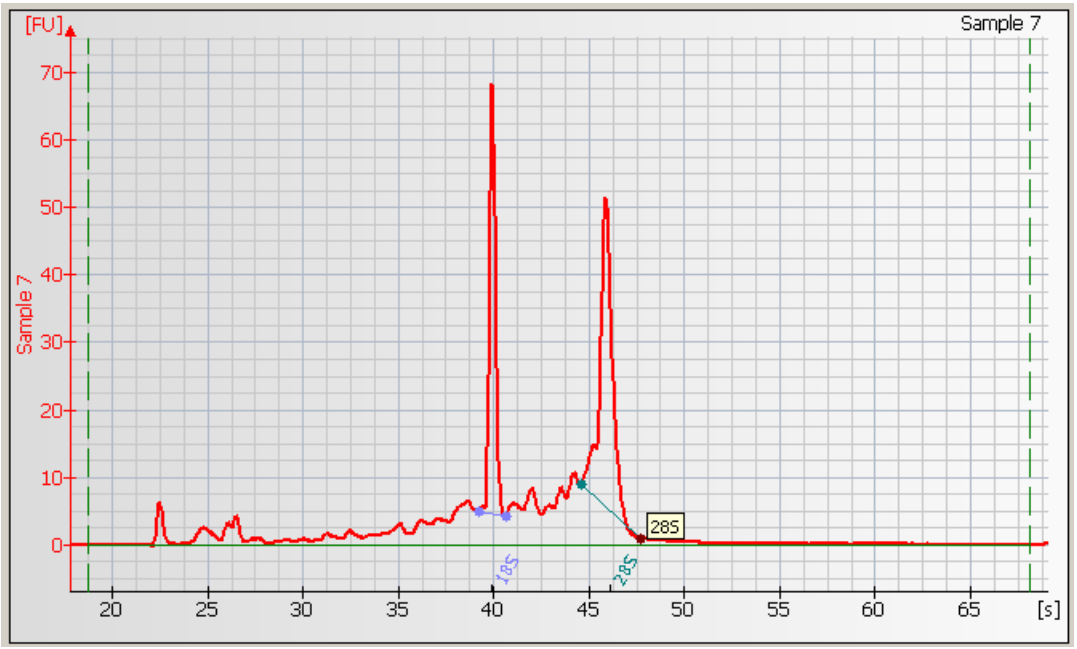
Dopo la filtrazione dei dati, l'algoritmo di ricerca dei picchi e calcola la linea di base locale del picco. L'algoritmo inizia trovando tutti i picchi al disopra della soglia di rumore per determinare la linea di base, dopo di che tutti i picchi al disotto di questa soglia vengono rifiutati. Viene calcolata una linea di base locale, per compensare le deviazioni della linea di base.

Le quattro impostazioni di ricerca dei picchi che possono essere modificate sono:

Min Peak Height (Altezza minima del picco)	Il valore di *Min Peak Height* (Altezza minima picco) determina se un picco deve essere considerato o no. Per ogni picco, la differenza tra il valore del punto d'inizio ed il valore del punto centrale (linea di base locale) deve essere maggiore del valore di *Min Peak Height* (Altezza minima del picco).
Min Peak Width (Altezza minima del picco)	L'impostazione del *Min Peak Width* (Larghezza minima del picco) determina l'ammontare minimo di tempo che deve trascorrere prima che sia riconosciuto un picco.
Slope Threshold (Limite di pendenza)	L'impostazione di *Slope Threshold* (Limite di pendenza) determina la differenza di pendenza che deve verificarsi perché sia considerata come inizio di un picco. L'inverso di questo valore viene utilizzato per determinare la fine del picco.
Baseline Plateau (Plateau linea di base)	L'impostazione *Baseline Plateau* (Plateau linea di base) è un parametro ausiliario per la ricerca dei picchi. Il ritorno del segnale alla linea di base viene riconosciuto ogni volta che la pendenza dei dati è inferiore allo *Slope Threshold* (Limite di pendenza) impostato (sia positivo che negativo) per un tempo più lungo di quello impostato per il plateau della linea di base. Questa impostazione rifiuta aree brevi e con scarsa pendenza come tra due picchi non risolti alla linea di base.

Spostamento manuale dei punti d'inizio e di fine del frammento (RNA e acidi nucleici marcati con Cy5)

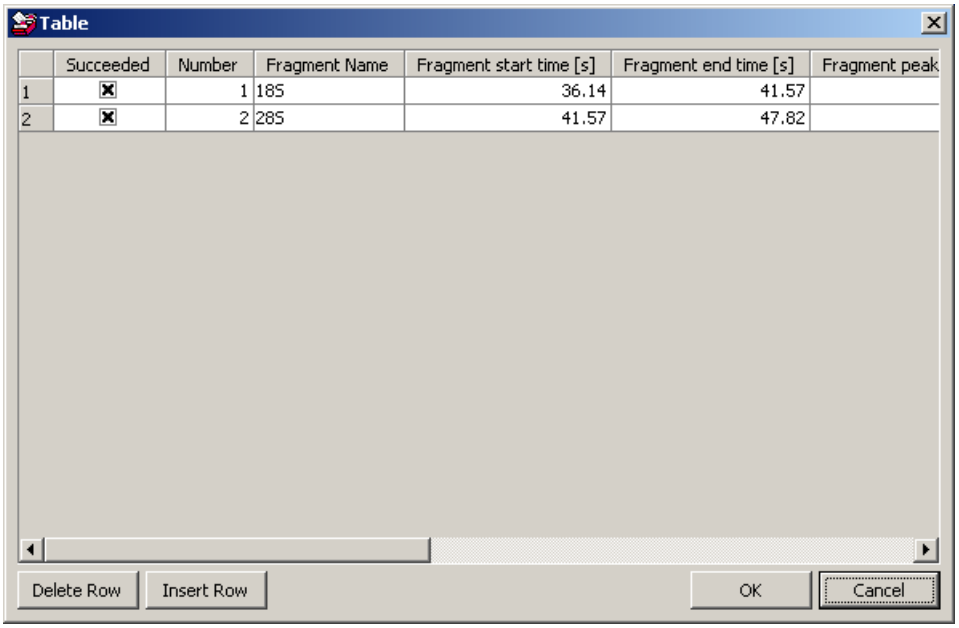
É anche possibile alterare i punti iniziale e finale manualmente per singoli frammenti in un'analisi di RNA o di acidi nucleici marcati con Cy5. I bordi dell'integrazione dei frammenti di DNA rilevati vengono visualizzati nella scheda secondaria *Fragment Table* (Tabella dei frammenti). Facendo lo zoom avanti alla base di un particolare frammento consente di vedere i punti iniziale e finale. Mettendo il cursore su uno di questi punti fa cambiare la sua forma in una mano indicatrice, consentendo di fare clic sul punto e trascinarlo lungo la linea del frammento fino alla posizione desiderata.



Spostare gli altri punti iniziali o finali secondo quanto desiderato.

SUGGERIMENTO

La tabella dei frammenti può essere modificata direttamente sul navigatore delle impostazioni:

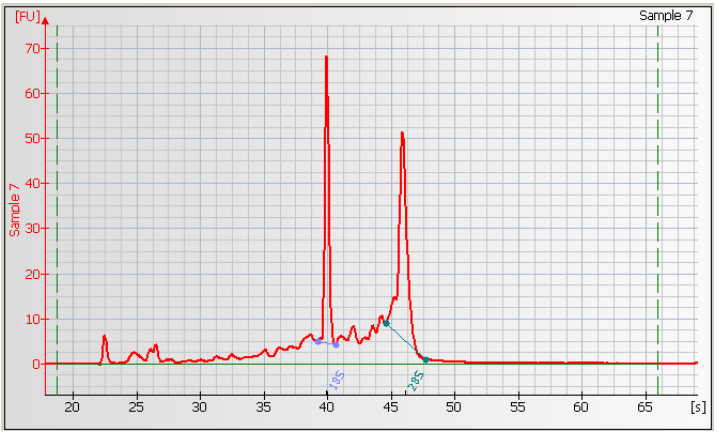


NOTA

La modifica dei punti iniziali e finali dei frammenti provocherà la variazione del rapporto rRNA così come del numero d'integrità dell'RNA (RIN) calcolati. Può essere conveniente mettere in pausa l'analisi automatica (*Electropherogram* > *Pause Automatic Analysis*) (Elettroferogramma > Metti in pausa l'analisi automatica) fino a che non sono state effettuate tutte le modifiche.

Impostazione della linea di base per il calcolo della concentrazione di RNA

Per bassi rapporti segnale/rumore, la linea di base che definisce l'area utilizzata per il calcolo della concentrazione di RNA è altamente indipendente dall'impostazione del tempo iniziale e finale. I tempi iniziale e finale possono essere regolati manualmente (regolando con ciò la linea di base) per assicurare un buon risultato anche con rapporti segnale/rumore molto bassi. Scegliere un campione. Nella finestra vengono visualizzate due linee verticali verdi tratteggiate che indicano l'impostazione dei tempi iniziale e finale (con la linea di base disegnata tra di essi).



Spostare il cursore sulla linea tratteggiata a sinistra (impostazione tempo iniziale) e trascinarla nella posizione desiderata. Fare la stessa cosa con la linea tratteggiata a destra (impostazione tempo finale) fino ad ottenere una linea di base piatta.

NOTA

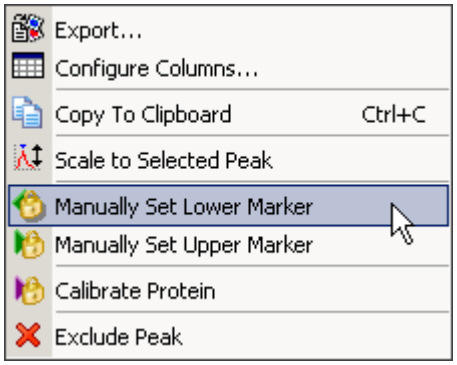
La modifica dei tempi iniziale e finale provocherà la variazione della concentrazione di RNA calcolata. Può essere utile mettere in pausa l'analisi automatica (*Electropherogram* > *Pause Automatic Analysis*) (Elettroferogramma > Metti in pausa l'analisi automatica) fino a che non sono state effettuate tutte le modifiche.

Assegnazione dei picchi dei marker superiore e inferiore

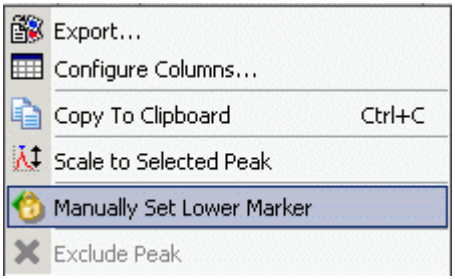
Per ogni campione di DNA o proteina, vengono prima assegnati i picchi dei marker superiore ed inferiore e poi i dati vengono allineati in modo che i tempi dei marker del campione corrispondano ai tempi dei marker dello standard, consentendo di determinare la dimensione e la concentrazione dei picchi del campione. I campioni di RNA vengono allineati esclusivamente ad un marker inferiore.

Il primo picco viene assegnato come marker inferiore e quindi viene spostato fino a corrispondere al marker inferiore dello standard. Il marker superiore viene quindi assegnato all'ultimo picco del campione oppure al picco più vicino al marker superiore dello standard. Vedere qui di seguito un esempio di picchi assegnati ai marker.

Se nell'analisi dello standard si ottiene un picco inatteso o se si scopre che i marker sono stati impostati in modo non corretto, è possibile escludere i picchi manualmente dallo standard oppure impostare un picco da utilizzare come marker. Facendo clic con il pulsante destro sulla tabella dei picchi si provoca l'apparizione di un menu del contesto, che consente di fare quanto segue:



Nel caso in cui il software 2100 expert non rilevi correttamente il marker inferiore in campioni di RNA, l'utente è in grado di assegnarli manualmente nello stesso modo.

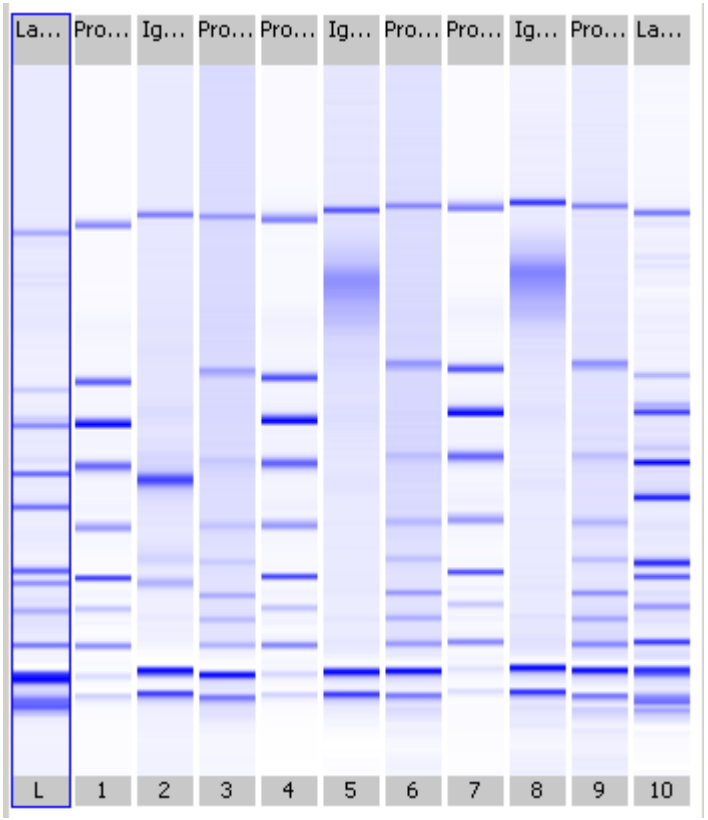


ATTENZIONE

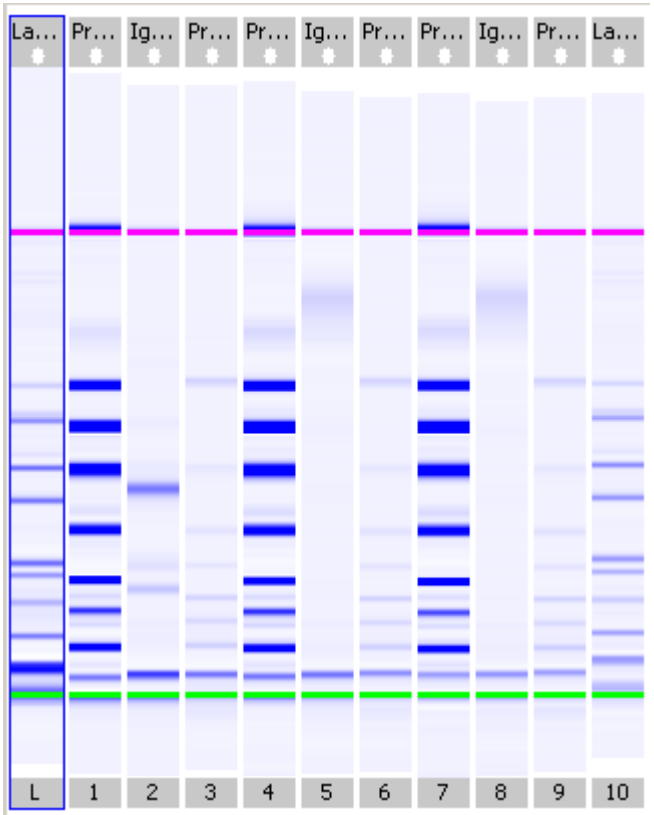
L'esclusione di un picco o l'impostazione manuale di un picco come marker inferiore o superiore possono provocare errori d'analisi.

Allineamento o disallineamento dei picchi marker

I marker superiore ed inferiore vengono quindi *allineati* ai marker dello standard ricampionando i dati del campione con un allungamento o compressione lineare utilizzando un fit punto a punto:



Dati prima dell'allineamento



Marker allineati allo standard

Se i picchi marker del campione sono lontani più di due volte o meno della metà rispetto ai marker dello standard, vengono considerati come picchi sbagliati e l'analisi del campione viene interrotta, producendo il messaggio d'errore "Picchi marker non identificati".

NOTA

Nell'analisi di DNA e proteina, l'altezza dei picchi marker è dipendente dall'analisi. I picchi dello standard vengono analizzati per calcolare una soglia del picco marker che viene utilizzata per localizzare i picchi marker nei pozzetti dei campioni. Se i picchi marker trovati utilizzando questo metodo di calcolo non corrispondono a quelli del campione, il software 2100 expert utilizzerà allora il valore impostato per il limite di altezza del picco (se questo valore è inferiore al valore del picco marker). Per esempio, il limite calcolato può essere troppo alto per trovare i marker del campione se questi, per qualsiasi ragione dovessero essere molto piccoli. Può accadere che non venga trovato nessun marker o che i marker acquisisca i picchi errati e questi non siano allineati con i marker dello standard. Di conseguenza, il software tenta di utilizzare il limite di altezza minima del picco che, se impostato su un valore sufficientemente basso, identificherà i marker corretti, consentendo l'allineamento del campione.

NOTA

Dopo l'allineamento, vengono mostrati i picchi con i relativi tempi di migrazione che sono diversi rispetto ai tempi reali dei picchi non allineati.

Manual Integration (Integrazione manuale)

Nell'analisi di DNA e proteina, il software 2100 expert consente di integrare manualmente i picchi. L'integrazione manuale consente di spostare, aggiungere o eliminare le linee di base dei picchi.

SUGGERIMENTO

Per spostare la linea di base di un picco, puntare lungo la linea verticale, premere il tasto CTRL ed il pulsante sinistro del mouse. Per spostare la linea di base del picco, puntare lungo il segnale, e premere solo il pulsante sinistro del mouse.

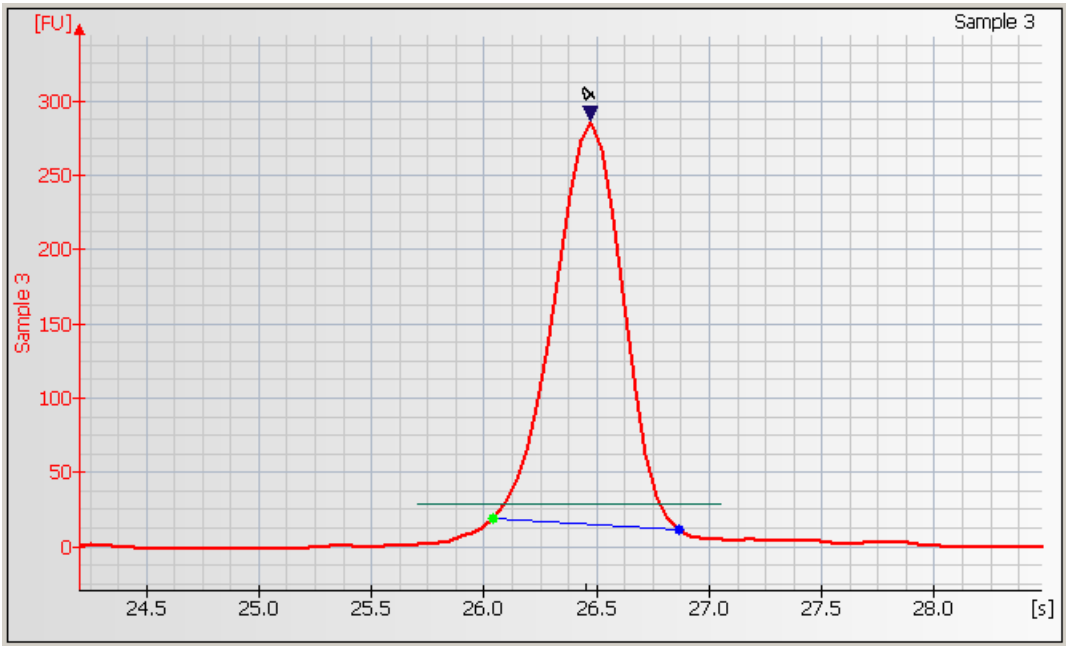
Esempio: Regolazione della linea di base del picco

Per modificare manualmente la linea di base del picco:

1. Evidenziare la scheda *Electropherogram* (Elettroferogramma) nel contesto *Data and Assay* (Dati e analisi) e fare zoom avanti sull'elettroferogramma per ingrandire il picco desiderato.
2. Selezionare *Electropherogram* > *Manual Integration* (Elettroferogramma > Integrazione manuale) per disattivare l'integrazione automatica.

   In alternativa è possibile fare clic sul pulsante *Manual Integration*  (Integrazione manuale) sulla barra degli strumenti.

   I punti della linea di base diventano visibili come punti blu o verdi. I punti della linea di base evidenziati sono identificati in verde e possono essere spostati lungo la linea verticale (premere il tasto CTRL ed il pulsante sinistro del mouse) oppure lungo il tracciato del segnale (pulsante sinistro del mouse). I punti blu della linea di base sono fissi e non possono essere spostati. Per evidenziare un punto della linea di base, fare clic su di esso.



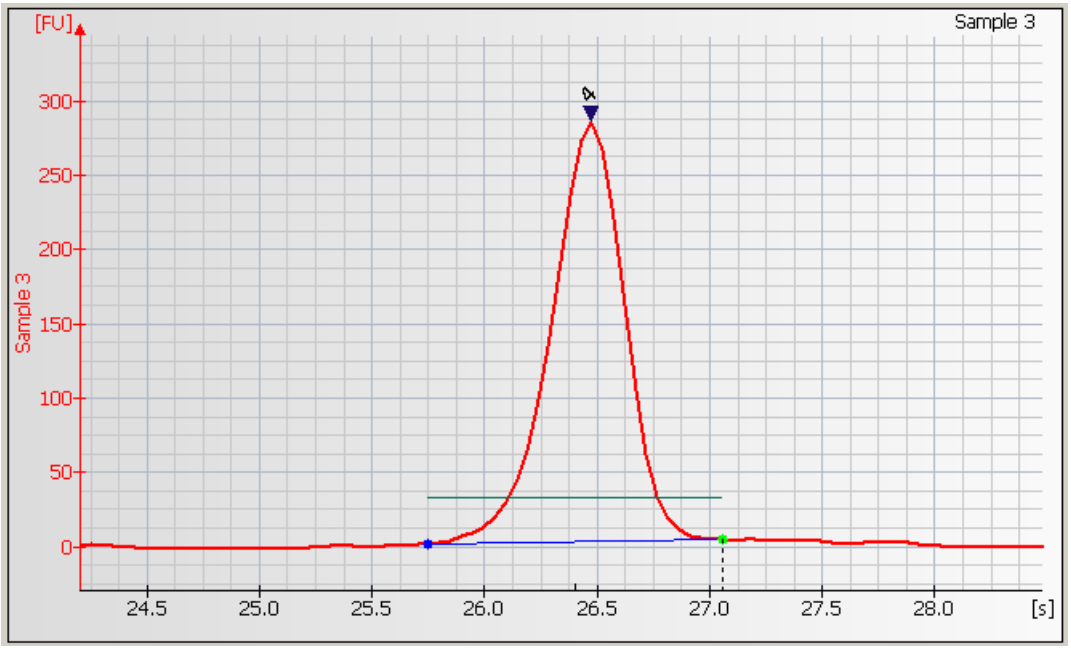
3 Mettere in pausa l'analisi automatica facendo clic sull'icona corrispondente sulla barra degli strumenti.

SUGGERIMENTO

Prima di effettuare l'integrazione manuale, si raccomanda fortemente di mettere in pausa l'analisi automatica e di riavviarla dopo che tutte le modifiche sono state effettuate. Altrimenti l'analisi dei dati si avvia in qualsiasi momento, quando i punti della linea di base vengono spostati.

---

4 Regolare i punti della linea di base nel modo appropriato.



SUGGERIMENTO

Per spostare la linea di base di un picco, puntare lungo la linea verticale, premere il tasto CTRL ed il pulsante sinistro del mouse. Per spostare la linea di base del picco, puntare lungo il segnale, e premere solo il pulsante sinistro del mouse.

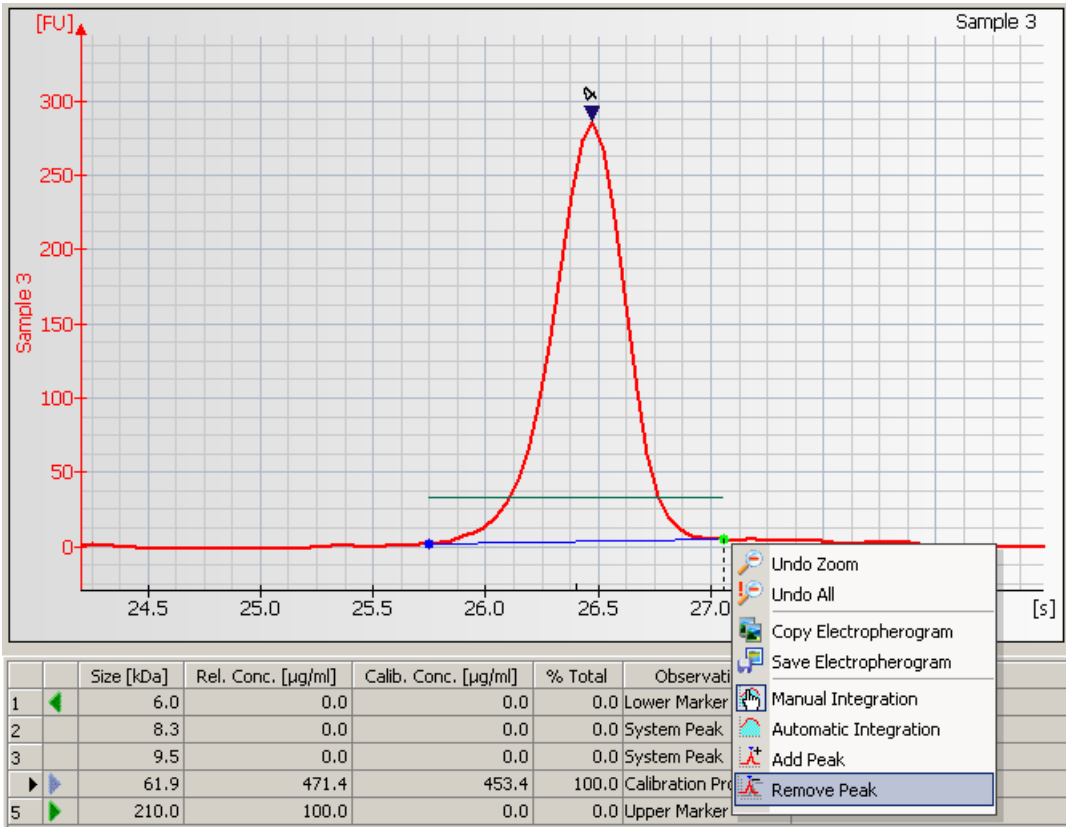
5 Fare clic sul pulsante *Automatic Analysis* (Analisi automatica) per riabilitare l'integrazione.

I risultati dell'integrazione sulle tabelle di risultati e picchi cambieranno in base alle modifiche effettuate

Esempio: Rimozione dei picchi

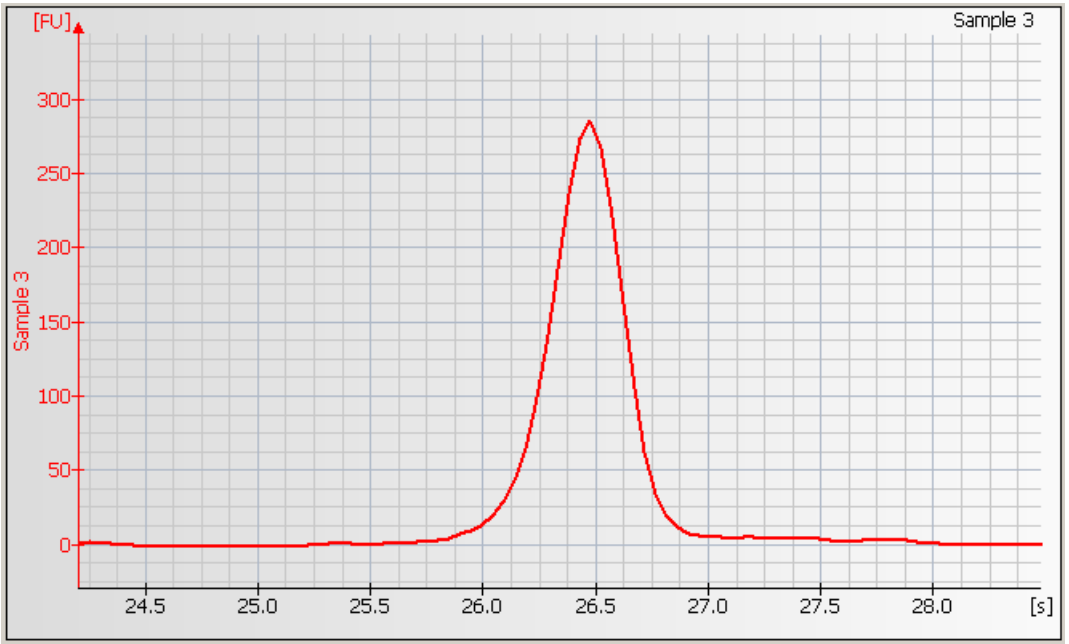
Per rimuovere i picchi:

1. Evidenziare la scheda *Electropherogram* (Elettroferogramma) nel contesto *Data and Assay* (Dati e analisi) e fare zoom avanti sull'elettroferogramma per ingrandire il picco desiderato.
2. Selezionare *Electropherogram* > *Manual Integration* (Elettroferogramma > Integrazione manuale) per disattivare l'integrazione automatica. In alternativa è possibile fare clic sul pulsante *Manual Integration*  (Integrazione manuale) sulla barra degli strumenti. I punti della linea di base diventano visibili come punti blu o verdi.



3 Fare clic con il pulsante destro su un punto della linea di base e selezionare *Remove Peak* (Rimuovi picco) sul menu del contesto.

I due punti della linea di base e la linea che li connette scompariranno ed i risultati dell'integrazione presenti nelle tabelle dei risultati e dei picchi saranno aggiornati:

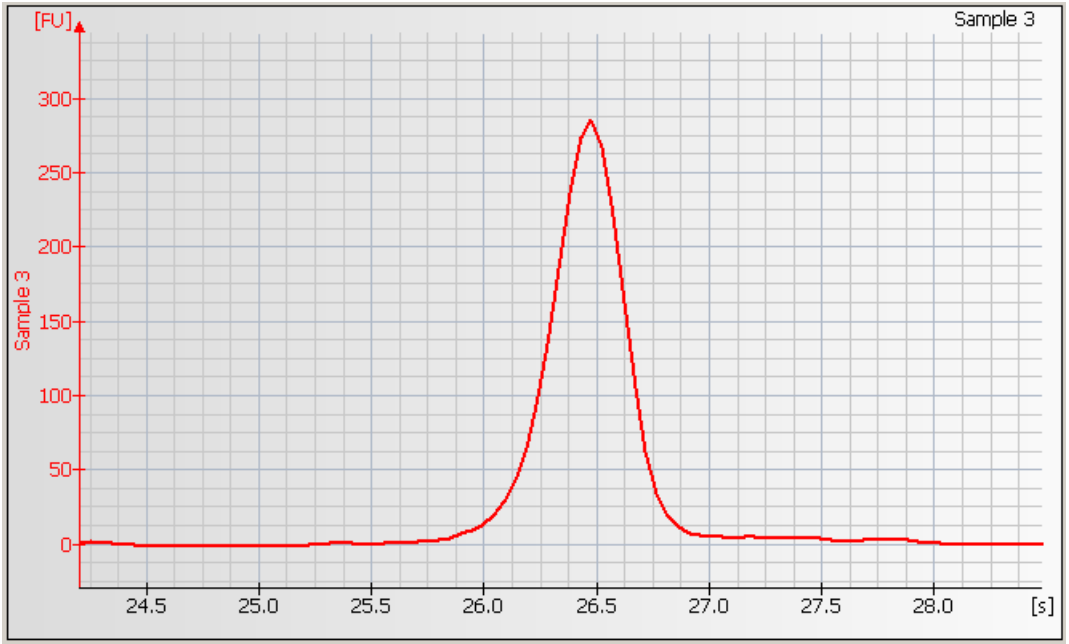


		Size [kDa]	Rel. Conc. [µg/ml]	Calib. Conc. [µg/ml]	% Total	Observations
1	◀	6.0	0.0	0.0	0.0	Lower Marker
2		8.3	0.0	0.0	0.0	System Peak
3		9.5	0.0	0.0	0.0	System Peak
▶	▶	210.0	100.0	0.0	0.0	Upper Marker

Esempio: Inserimento della linea di base del picco

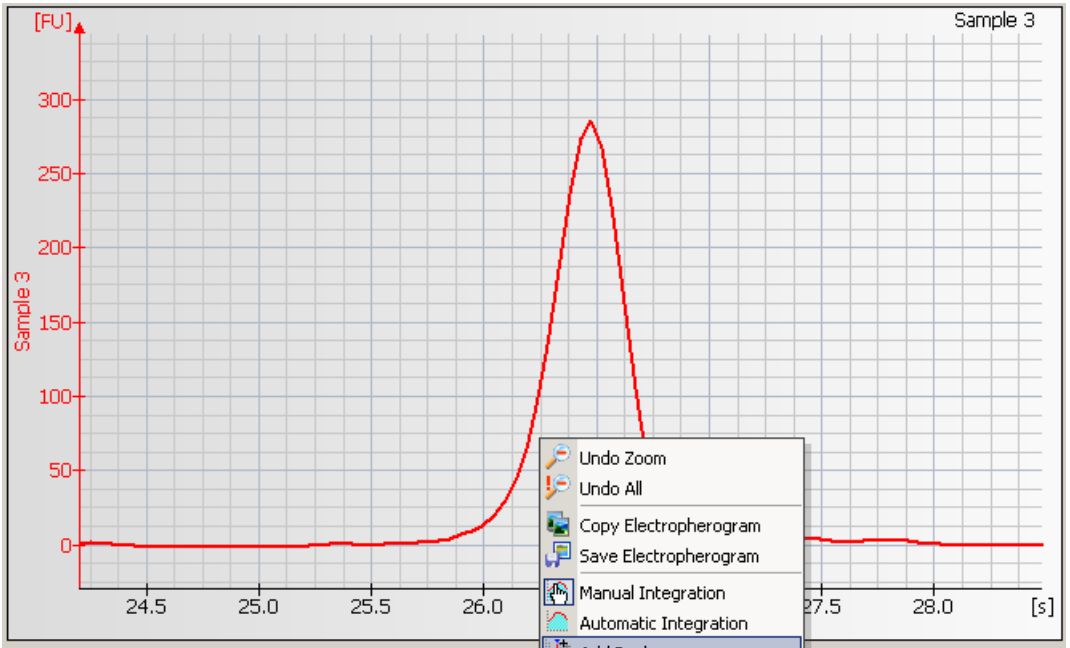
Per inserire i picchi manualmente:

1 Evidenziare la scheda *Electropherogram* (Elettroferogramma) nel contesto *Data and Assay* (Dati e analisi) e fare zoom avanti sull'elettroferogramma per ingrandire il picco desiderato.



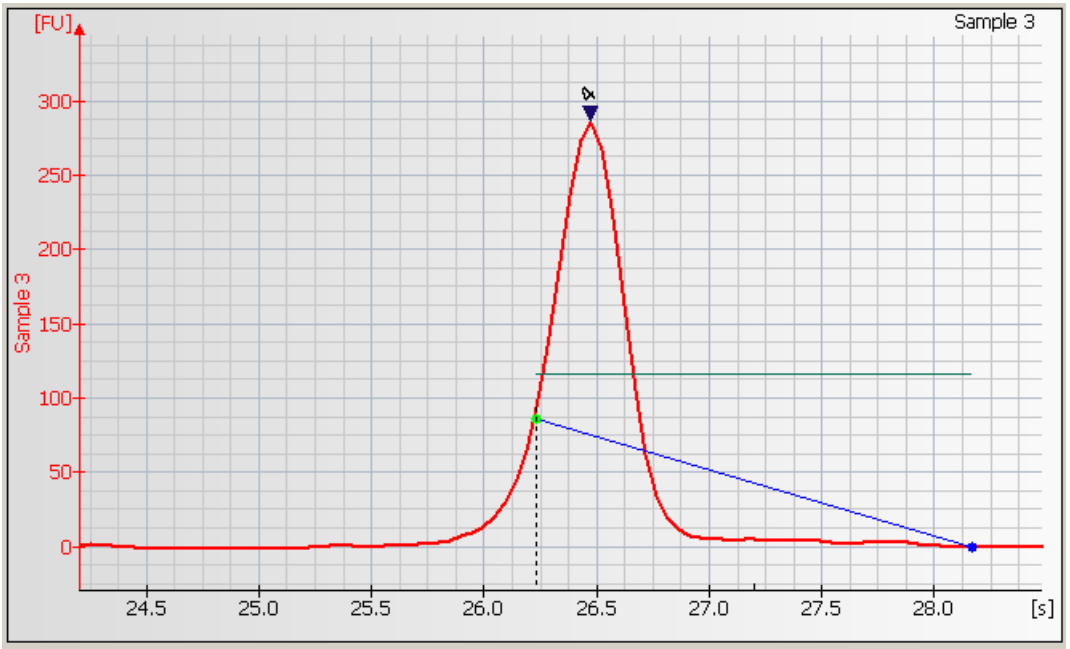
		Size [kDa]	Rel. Conc. [µg/ml]	Calib. Conc. [µg/ml]	% Total	Observations
1		6.0	0.0	0.0	0.0	Lower Marker
2		8.3	0.0	0.0	0.0	System Peak
3		9.5	0.0	0.0	0.0	System Peak
		210.0	100.0	0.0	0.0	Upper Marker

2 Fare clic con il pulsante destro sull'elettroferogramma e selezionare *Add Peak* (Aggiungi picco) sul menu del contesto.



		Size [kDa]	Rel. Conc. [µg/ml]	Calib. Conc. [µg/ml]		
1	◀	6.0	0.0	0.0		
2		8.3	0.0	0.0	0.0	System Peak
3		9.5	0.0	0.0	0.0	System Peak
4	▶	210.0	100.0	0.0	0.0	Upper Marker

3 Vengono visualizzati i due punti della linea di base e la linea che li connette ed i risultati dell'integrazione presenti nelle tabelle dei risultati e dei picchi saranno aggiornati.



		Size [kDa]	Rel. Conc. [µg/ml]	Calib. Conc. [µg/ml]	% Total	Observations
1		6.0	0.0	0.0	0.0	Lower Marker
2		8.3	0.0	0.0	0.0	System Peak
3		9.5	0.0	0.0	0.0	System Peak
		61.9	231.3	224.9	100.0	Calibration Protein
5		210.0	100.0	0.0	0.0	Upper Marker

4 Mettere in pausa l'analisi automatica facendo clic sull'icona corrispondente  sulla barra degli strumenti.

SUGGERIMENTO

Prima di effettuare l'integrazione manuale, si raccomanda fortemente di mettere in pausa l'analisi automatica e di riavviarla dopo che tutte le modifiche sono state effettuate. Altrimenti l'analisi dei dati si avvia in qualsiasi momento, quando i punti della linea di base vengono spostati.

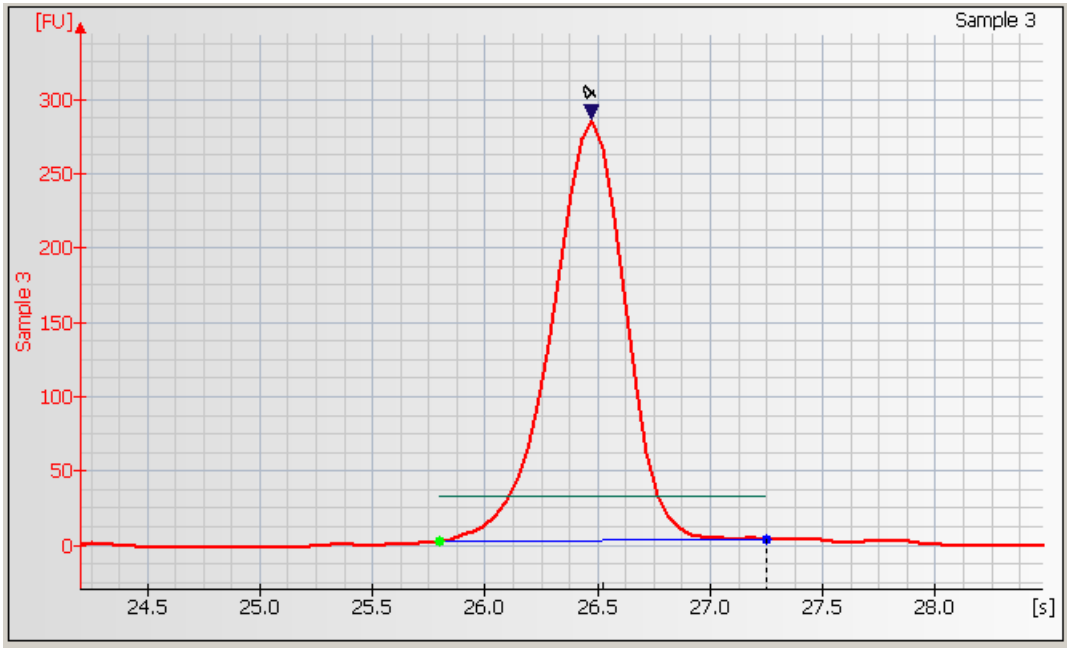
5 Regolare i punti della linea di base nel modo appropriato.

SUGGERIMENTO

Per spostare la linea di base di un picco, puntare lungo la linea verticale, premere il tasto CTRL ed il pulsante sinistro del mouse. Per spostare la linea di base del picco, puntare lungo il segnale, e premere solo il pulsante sinistro del mouse.

6 Fare clic sul pulsante *Automatic Analysis* (Analisi automatica) per riabilitare l'integrazione.

I risultati dell'integrazione sulle tabelle di risultati e picchi cambieranno in base alle modifiche effettuate



		Size [kDa]	Rel. Conc. [µg/ml]	Calib. Conc. [µg/ml]	% Total	Observations
1		6.0	0.0	0.0	0.0	Lower Marker
2		8.3	0.0	0.0	0.0	System Peak
3		9.5	0.0	0.0	0.0	System Peak
▶		61.9	472.1	454.1	100.0	Calibration Protein
5		210.0	100.0	0.0	0.0	Upper Marker

Rianalisi di un file di dati del chip

NOTA

Occasionalmente può essere necessario aprire e visualizzare un file di dati del chip analizzato e memorizzato precedentemente. I valori dei dati grezzi vengono memorizzati nel file di dati, assieme alle impostazioni d'analisi selezionate per l'analisi del chip, in modo che i dati possano essere rianalizzati con impostazioni differenti.

Per fare ciò:

1 Fare clic su *File* > *Open* (File > Apri) per aprire un file di dati del chip (.xad).

2. Scegliere il nome del file dall'elenco di file di dati.

3. Fare clic su *OK*.

Le voci che possono essere modificate per la rianalisi sono:

Tutte le analisi

- Impostazioni globali di ricerca dei picchi
- Impostazioni di ricerca dei picchi per ogni singola analisi
- Dimensione delle coppie di basi attese per alcune analisi
- Colore del gel
- Nomi dei campioni e commenti
- Integrazione manuale

Solo per l'analisi dell'RNA

- Nomi dei colori e colori associati alle etichette
- Tempi di inizio/fine dei frammenti, frammenti aggiuntivi (o cancellazione dei frammenti trovati)

Solo per l'analisi di DNA e proteina

- Esclusione di picchi dall'analisi
- Riassegnazione di marker inferiore/superiore
- Allineamento o non allineamento con i picchi dello standard
- Analisi (è possibile salvare le impostazioni modificate con un nuovo nome d'analisi, se lo si desidera)

SUGGERIMENTO

Quando si applicano impostazioni modificate dell'analisi dei dati, il software ricalcola immediatamente (per predefinizione) i dati grezzi, operazione che richiederà un po' di tempo. Selezionare *Don't Analyze* (Non analizzare) sul *Menu Gel* o sul *Menu Electropherogram (Elettroferogramma)* per disattivare temporaneamente l'analisi dei dati mentre si modificano le impostazioni.

Se si salva il file di dati dopo aver effettuato le modifiche, questo terrà una registrazione delle modifiche come il colore del gel, i nomi dei campioni e le impostazioni di ricerca dei picchi che erano attive nel momento in cui il file è stato risalvato. Se non si desidera modificare il file originale fare clic su *File* > *Save As...* (File > Salva con nome) e dare un nuovo nome al file o salvarlo in una posizione differente.

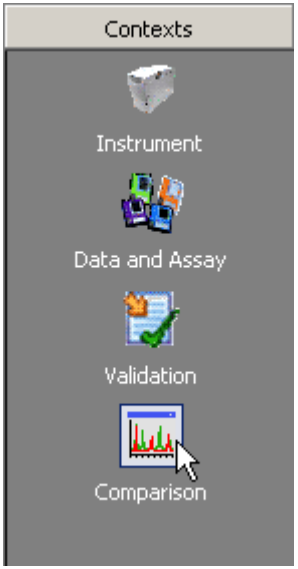
Confronto tra campioni provenienti da differenti analisi del chip

Il software *2100 expert* consente di confrontare i risultati delle misurazioni di campioni provenienti da analisi diverse del chip elettroforetico. I campioni da confrontare devono appartenere ad analisi del chip dello stesso tipo.

Nel contesto *Comparison* (Confronto), si possono per esempio creare file di confronto, includere campioni provenienti da diverse analisi del chip e confrontare i campioni sovrapponendo gli elettroferogrammi.

Per confrontare campioni provenienti da differenti analisi elettroforetiche del chip:

1 Passare al contesto *Comparison* (Confronto):



2 Sul menu *File* selezionare *Open...* (Apri...) ed aprire tutti i file di dati del chip (.xad) che contengono i campioni che si desidera confrontare.

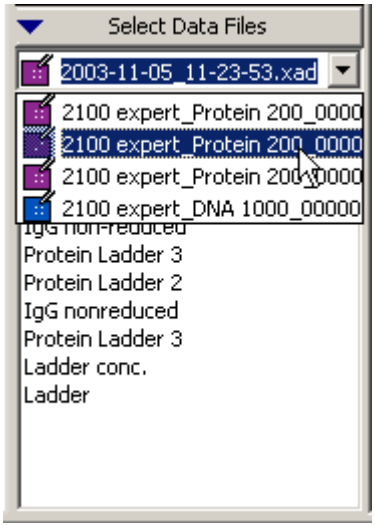
I file .xad appaiono nell'elenco *Select Data Files* (Seleziona file di dati) del *Pannello della struttura ad albero*.

NOTA

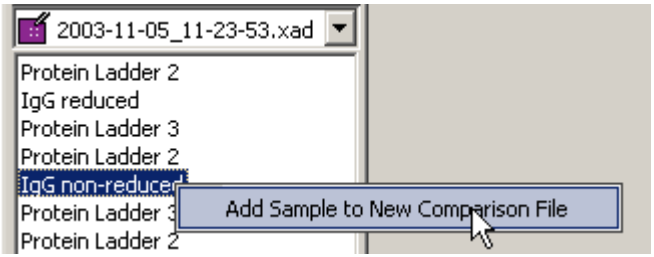
L'elenco *Select Data Files* (Seleziona dati file) contiene anche tutti i file elettroforetici .xad che sono aperti nel contesto *Data and Assay* (Dati e analisi).

---

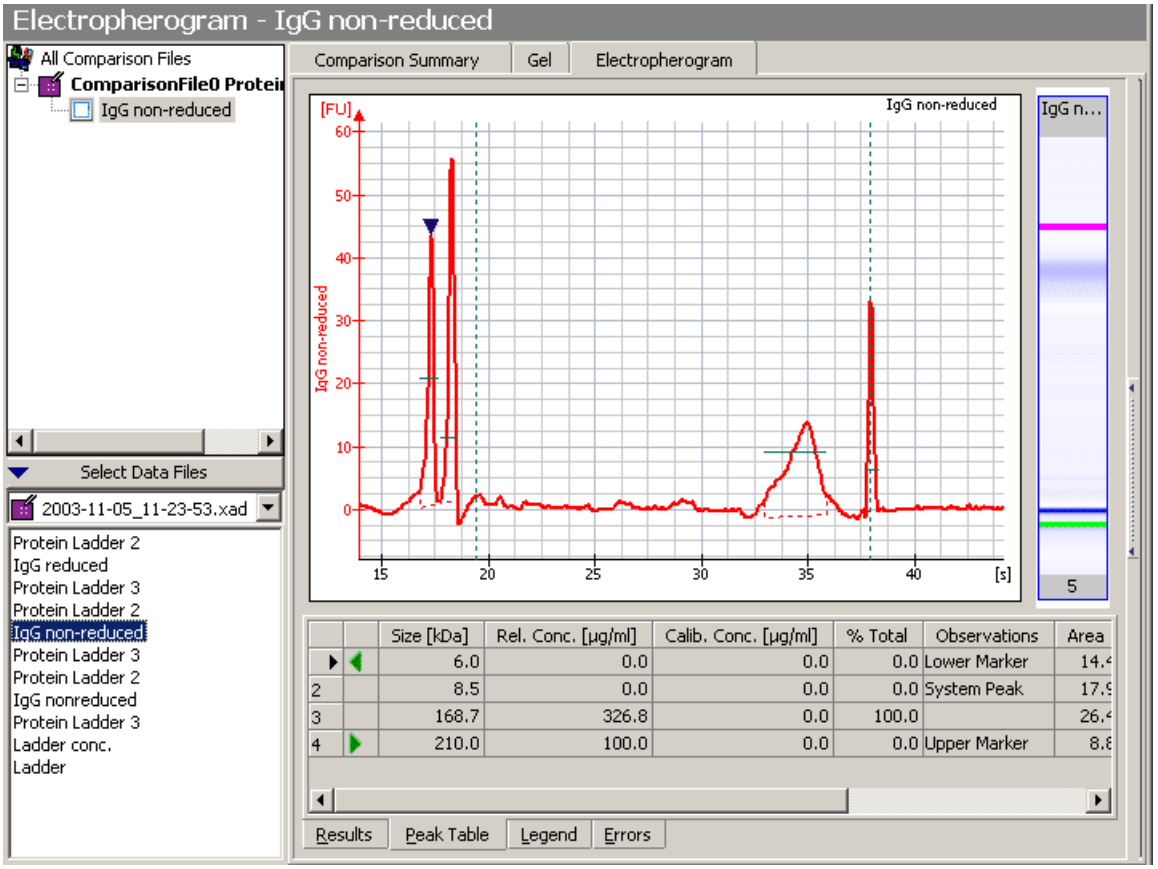
3 Selezionare un file .xad dall'elenco *Select Data Files* (Seleziona dati file) per visualizzare un elenco dei suoi campioni.



4 Fare clic con il pulsante destro sul nome del campione e selezionare *Add Sample to New Comparison File* (Aggiungi campione al nuovo file di confronto).

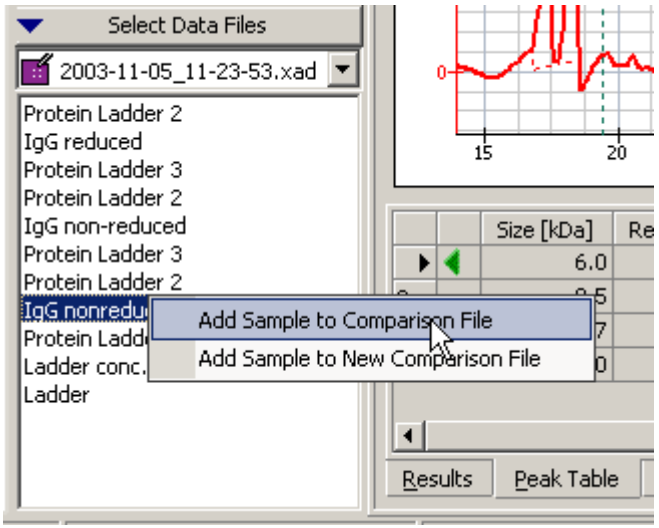


Nella parte superiore della struttura ad albero viene visualizzato un nuovo file di confronto contenente il campione. Il campione viene selezionato e viene mostrato il suo elettroferogramma.



La *Scheda Electropherogram (Single/Grid View) (Elettroferogramma (Visualizzazione singola/griglia))* ha le stesse funzionalità che ha nel contesto *Data and Assay* (Dati e analisi).

5 È ora possibile aggiungere al file di confronto ulteriori campioni da qualsiasi dei file .xad aperti.



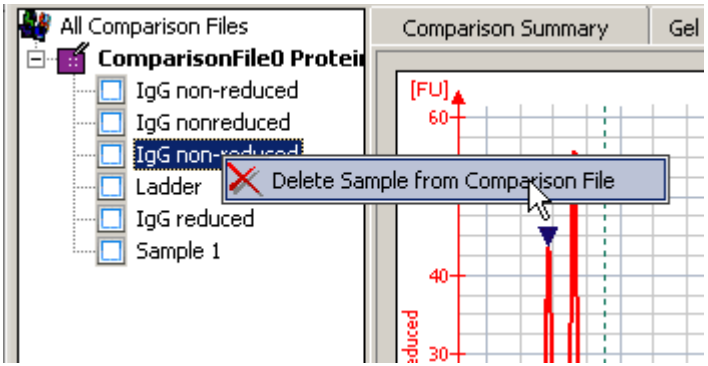
SUGGERIMENTO

Facendo doppio clic sul nome di un campione nella parte *inferiore* della struttura ad albero o trascinando il nome di un campione nella struttura ad albero, si può aggiungere il campione corrispondente al file di confronto attualmente selezionato nella parte *superiore* della struttura ad albero. Oppure, se non viene selezionato un file, crea un nuovo file di confronto ed aggiunge ad esso il campione.

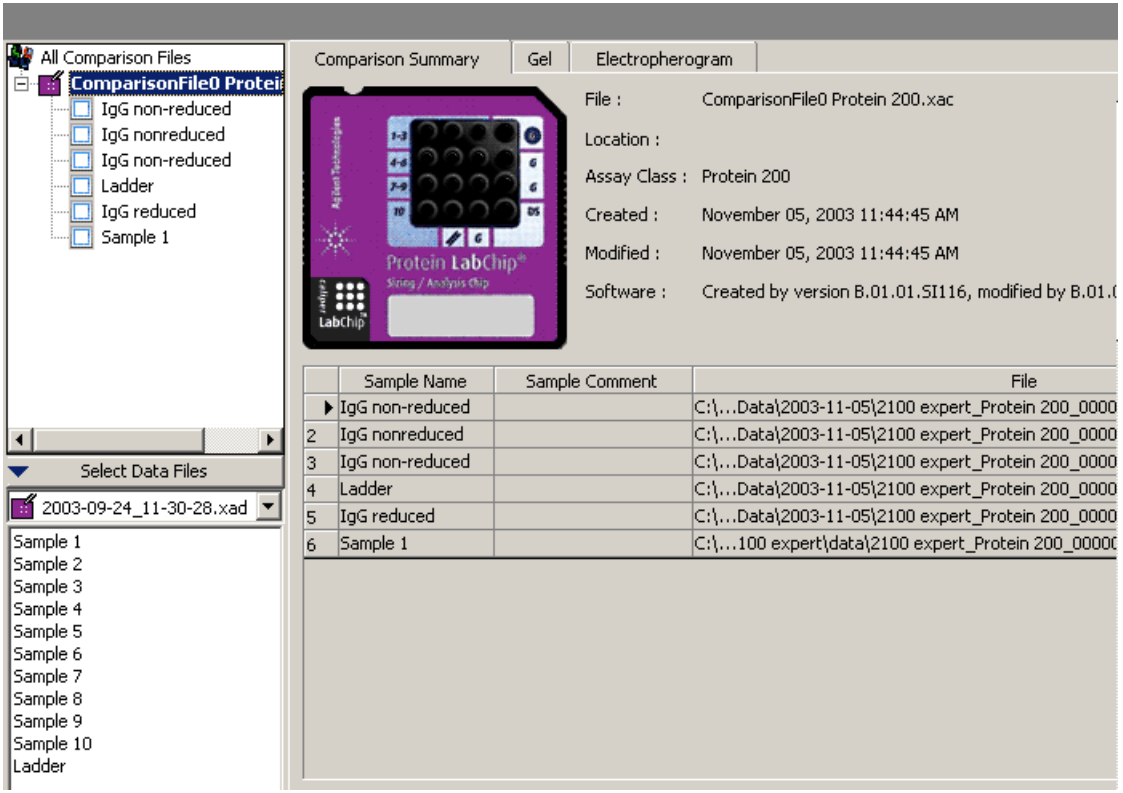
Se si tenta di aggiungere un campione di un file .xad con il nome dell'analisi sbagliato, viene visualizzato il seguente messaggio d'errore:



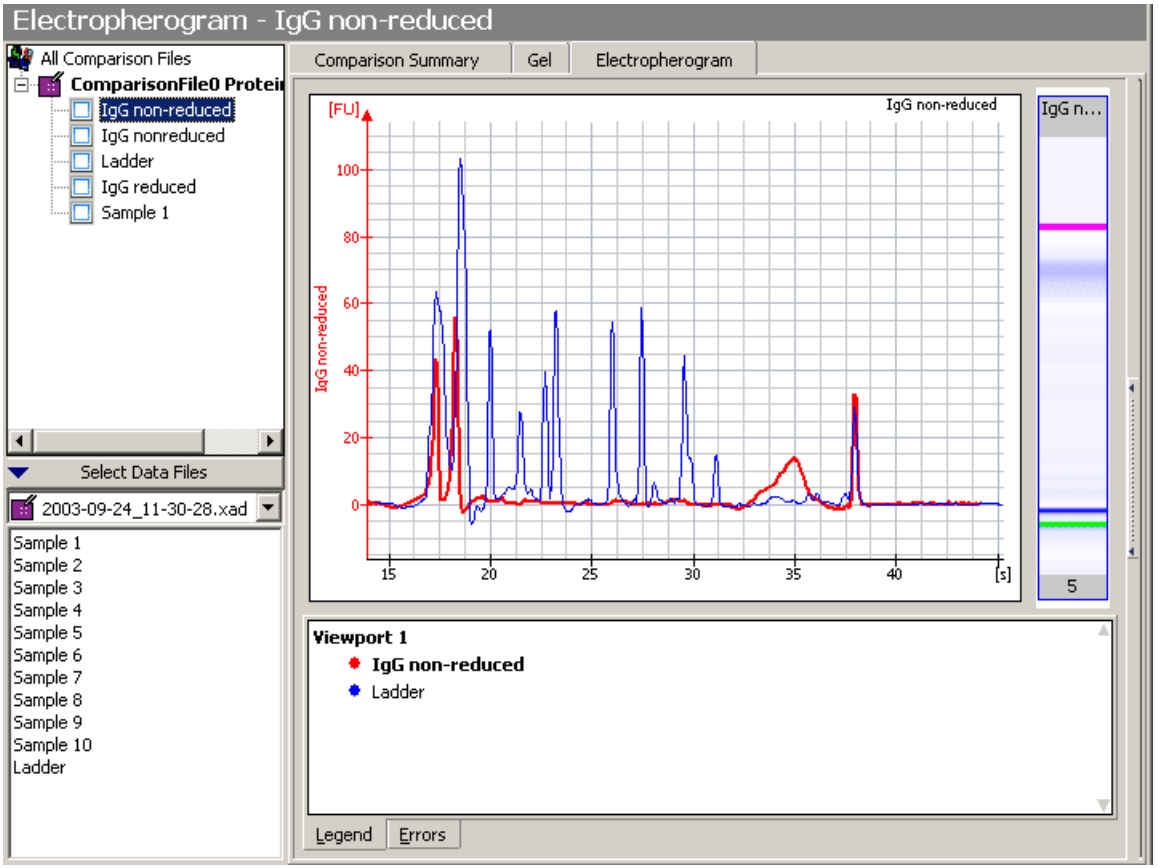
6 È anche possibile rimuovere i campioni da un file di confronto. Fare clic con il pulsante destro sul nome del campione e selezionare *Delete Sample from Comparison File* (Elimina campione dal file di confronto).



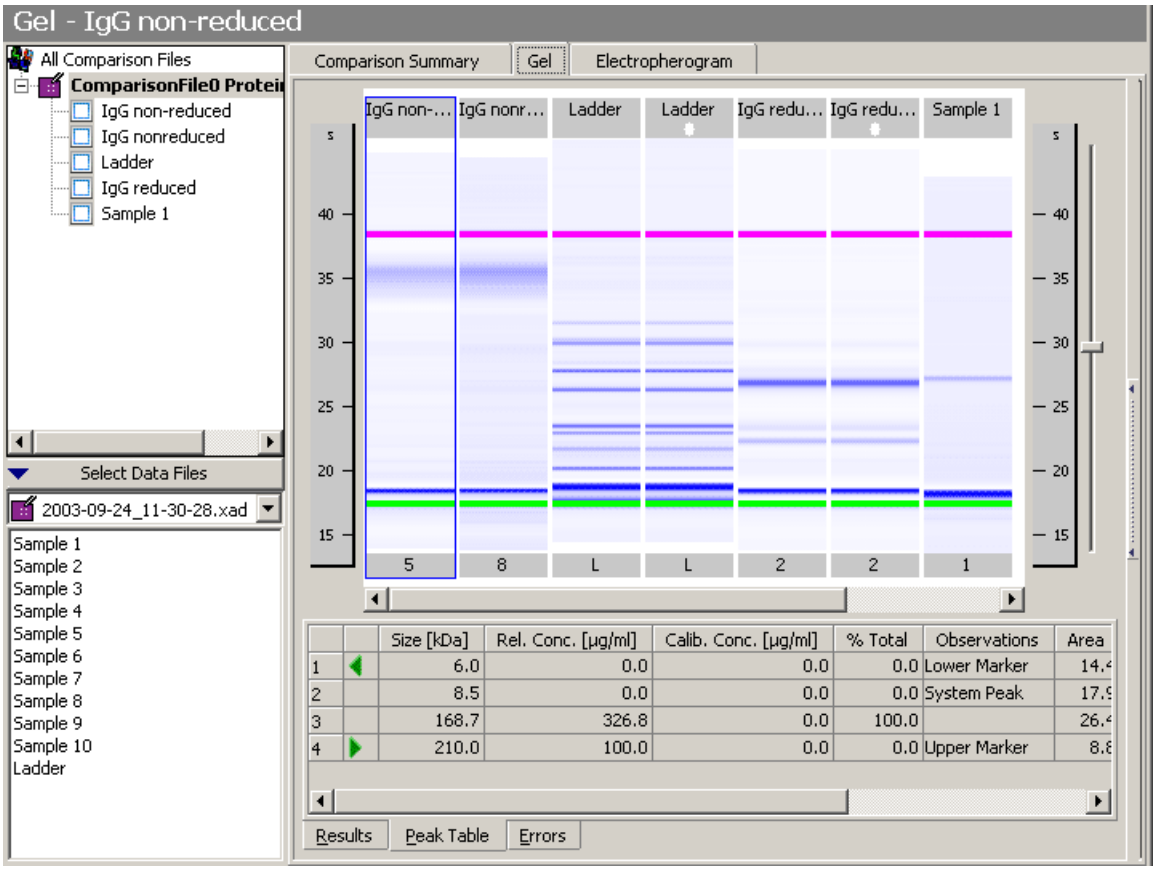
7 Dopo aver aggiunto tutti i campioni è possibile selezionare la *Scheda Comparison Summary (Riepilogo confronto)* che visualizza informazioni sul file di confronto e consente di inserire un commento relativo al confronto.



8 Per confrontare l'elettroferogramma dei campioni, passare alla scheda *Electropherogram* (Elettroferogramma), fare clic su *Overlaid Samples* (Campioni sovrapposti) sulla barra degli strumenti (vedere la sezione "Contesto Data and Assay (Dati e analisi) - Barra degli strumenti Electropheresis (Elettroforesi)" a pagina 432), quindi selezionare il campione da confrontare.



9 Selezionare la scheda *Gel* per visualizzare un confronto delle immagini gel-simili dei campioni.



È utile notare che la *Scheda Gel* ha le stesse funzionalità che ha nel contesto *Data and Assay* (Dati e analisi).

10 Dal menu *File*, selezionare *Save* (Salva) per salvare il file di confronto (.xac) con il nome predefinito, oppure selezionare *Save As...* (Salva con nome) per salvarlo con un nuovo nome.

Il nome predefinito viene derivato dalla classe dell'analisi: “ComparisonFileX [Classe analisi].xac” dove “X” è un numero progressivo. Esempio: “ComparisonFile0 Protein 200.xac”.

NOTA

È possibile riaprire i file di confronto per rivedere i risultati del confronto e per aggiungere/rimuovere i campioni.

Result Flagging (Evidenziazione dei risultati)

L'evidenziazione dei risultati può essere utilizzata per assegnare al campione un codice colore definito dall'utente. Questo consente d'identificare facilmente i campioni con determinate proprietà immediatamente dopo l'analisi del chip.

L'assegnazione del colore viene effettuata applicando una sequenza di regole ai risultati della misurazione ottenuti per il campione. Le regole vengono definite a livello del chip e vengono applicate per tutti i campioni del chip.

Esistono due modalità:

- In modalità *Normal* (Normale), le regole vengono applicate in un determinato ordine e la prima regola che viene soddisfatta determina il colore del campione. Tutte le regole vengono applicate successivamente. La prima regola applicabile al campione ne definisce il colore. Occorre quindi partire con la regola più specifica. Se questa non è applicabile, è possibile che sia applicabile una regola meno specifica. Se nessuna delle regole definite è applicabile, la regola predefinita finale definisce il codice colore.
- In modalità *Target* (Obiettivo), tutte le regole vengono applicate successivamente. Se la regola successiva è applicabile, il codice colore cambia nel codice colore definito dalla regola, altrimenti viene mantenuto il colore precedente. Pertanto, l'ultima regola valida definisce il colore del campione. Questa modalità viene definita modalità obiettivo perché le ultime regole rifiniscono il risultato del codice colore. Il primo codice colore è il più generico mentre l'ultimo è il più specifico.

È possibile definire le regole di evidenziazione già dall'analisi, oppure - dopo che è terminata l'analisi del chip - modificare queste regole o definirne di nuove nel file di dati del chip ed applicarle ai risultati dell'analisi. Le regole definite possono anche essere salvate, caricate ed applicate ad altri file di dati.

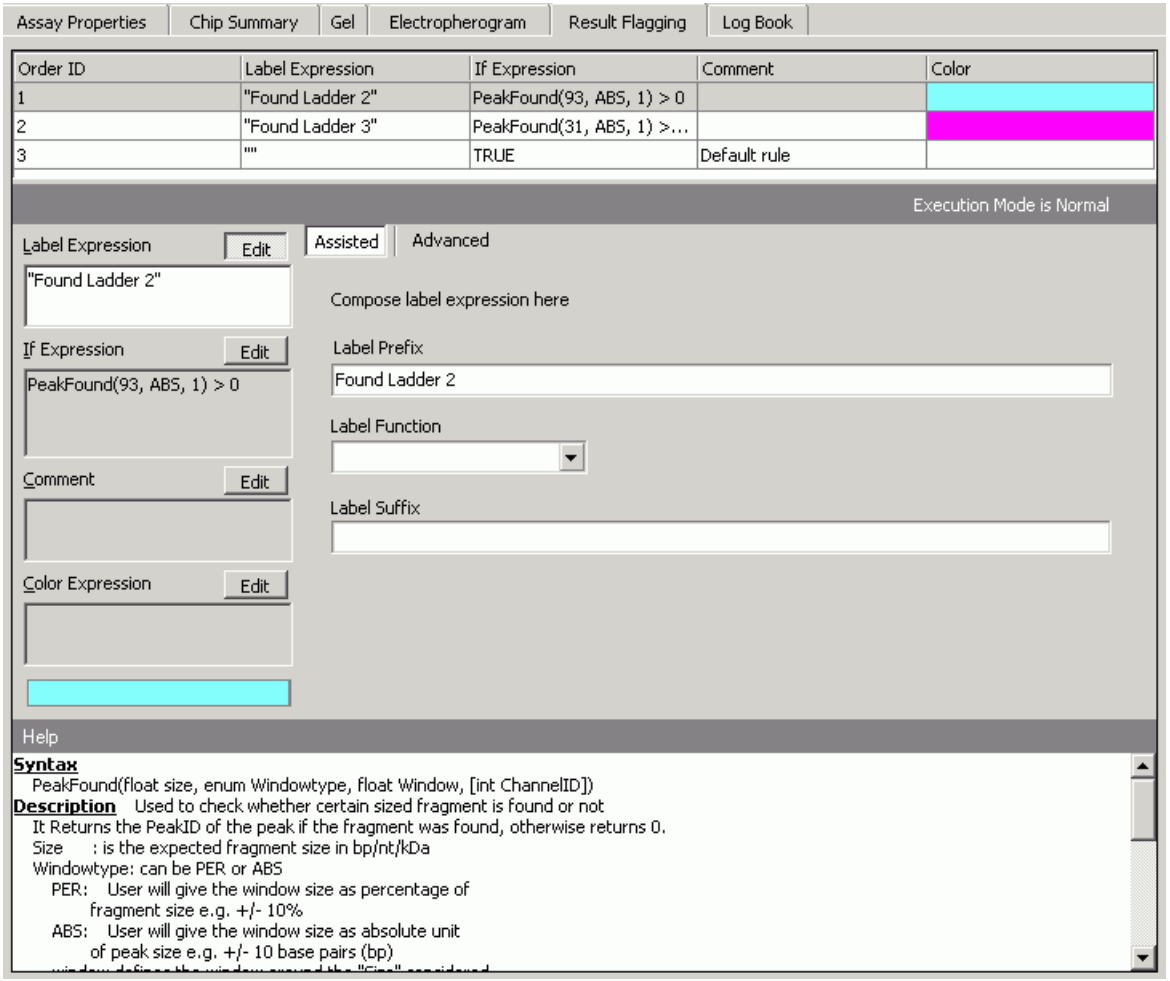
SUGGERIMENTO

Gli esempi di questo capitolo sono stati presi dall'analisi dimostrativa “Demo Protein 200 Plus.xsy”, che viene fornita con il software *2100 expert*. Questa analisi dimostrativa è disponibile nella sottodirectory “..\assays\demo\electrophoresis” subdirectory della cartella d'installazione di *2100 expert*.

Nella sottodirectory “..\data\samples\resultflagging” della cartella d'installazione di *2100 expert* , sono disponibili ulteriori esempi di regole di evidenziazione dei risultati (.xml) che si possono importare nell'analisi dimostrativa “Protein 200 Plus”.

Definizione delle regole di evidenziazione dei risultati

Le regole possono essere definite nella scheda *Result Flagging* (Evidenziazione dei risultati), disponibile nel contesto *Data and Assay* (Dati e analisi) se viene selezionato un file di dati del chip (.xad.) o di analisi (.xsy).



Una regola di evidenziazione dei risultati è costituita dai seguenti elementi:

- *Label Expression* (Espressione dell'etichetta)

  Una descrizione opzionale per le regole utilizzate per etichettare i campioni che soddisfano la regola.

- *Espressione If*

  Un espressione costruita in base a funzioni, variabili ed operatori logici predefiniti.

- *Commento*

  Un commento opzionale per la regola.

- *Espressione colore*

  Un colore a tinta unita o un gradiente di colore costruito sulla base di due colori, utilizzato per evidenziare i campioni che soddisfano la regola.

Per informazioni dettagliate su tutti gli elementi della scheda *Result Flagging* (Evidenziazione risultati), vedere la sezione "Scheda Result Flagging (Evidenziazione dei risultati)" a pagina 557.

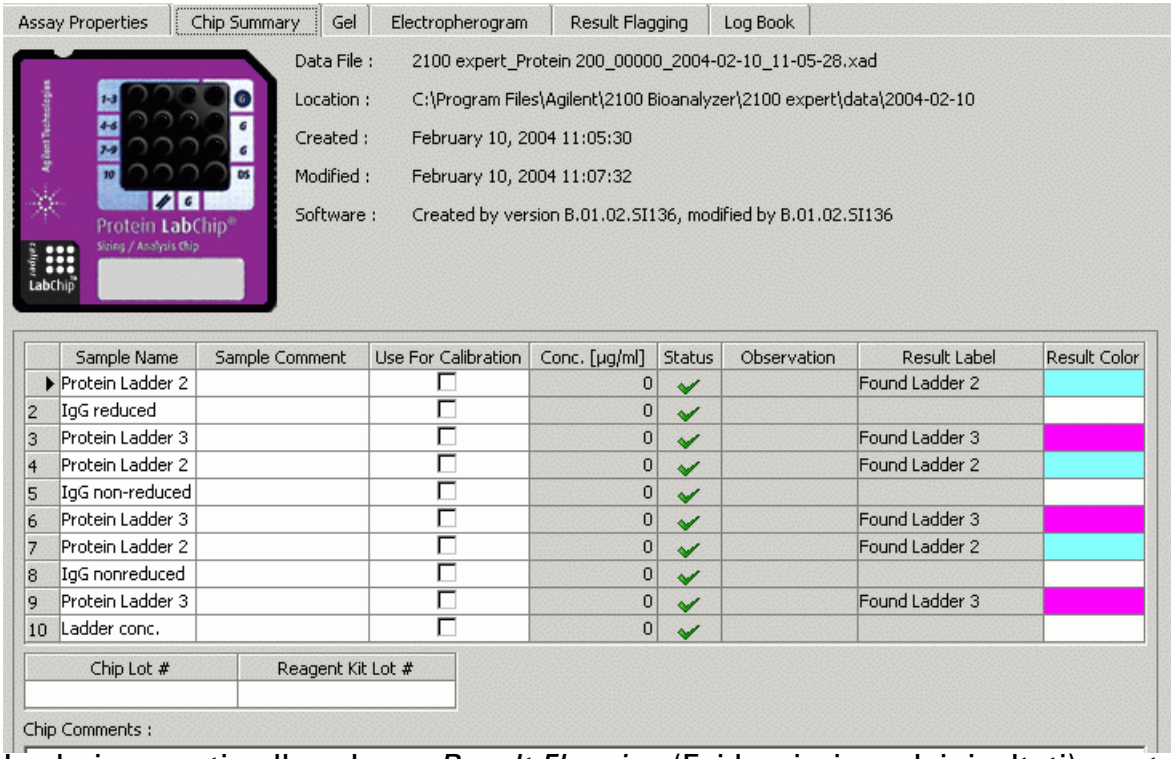
"Come definire le regole di evidenziazione dei risultati" a pagina 186 mostra come procedere per definire le regole.

È possibile riutilizzare le definizioni delle regole di evidenziazione dei risultati, vedere "Esportazione delle regole di evidenziazione dei risultati" a pagina 322 e "Importazione delle regole di evidenziazione dei risultati" a pagina 310.

Indicazione del colore

L'evidenziazione dei risultati mostra:

- Nella *Scheda Chip Summary (Riepilogo chip):*



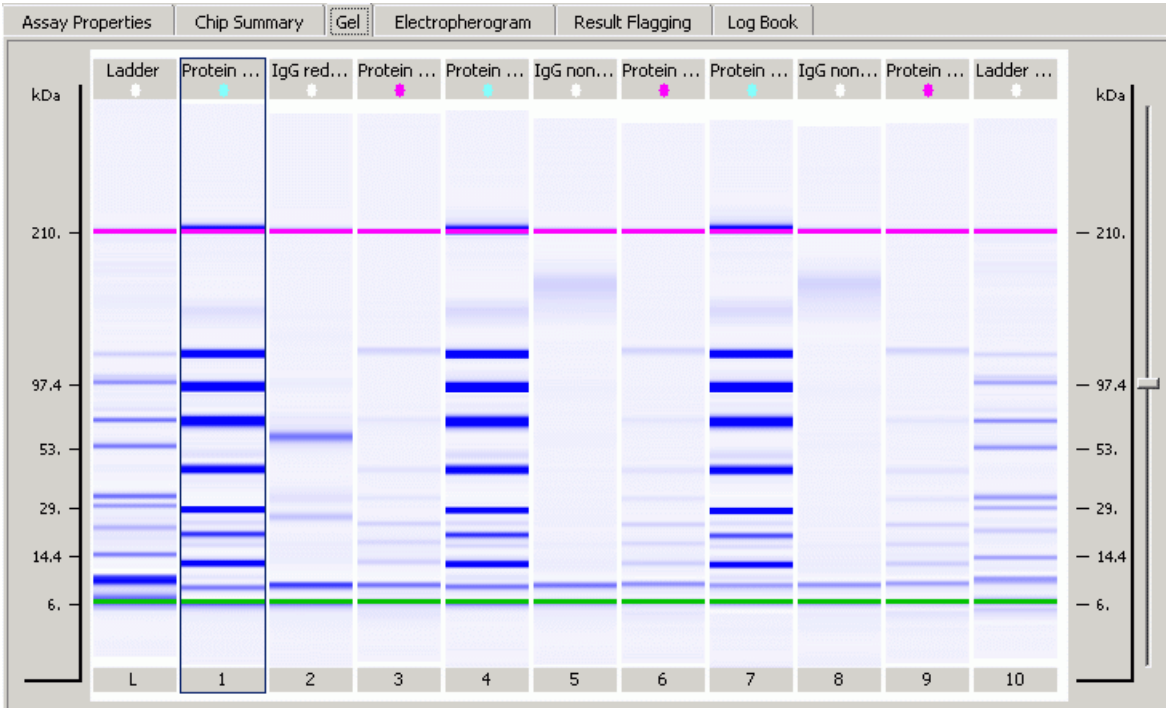
	Sample Name	Sample Comment	Use For Calibration	Conc. [µg/ml]	Status	Observation	Result Label	Result Color
▶	Protein Ladder 2		☐	0	✓		Found Ladder 2	
2	IgG reduced		☐	0	✓			
3	Protein Ladder 3		☐	0	✓		Found Ladder 3	
4	Protein Ladder 2		☐	0	✓		Found Ladder 2	
5	IgG non-reduced		☐	0	✓			
6	Protein Ladder 3		☐	0	✓		Found Ladder 3	
7	Protein Ladder 2		☐	0	✓		Found Ladder 2	
8	IgG nonreduced		☐	0	✓			
9	Protein Ladder 3		☐	0	✓		Found Ladder 3	
10	Ladder conc.		☐	0	✓			

Chip Lot #	Reagent Kit Lot #

Chip Comments :

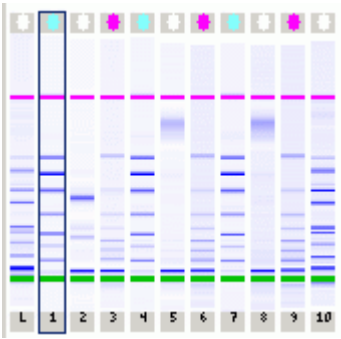
I colori presenti nella colonna *Result Flagging* (Evidenziazione dei risultati) mostrano quale campione soddisfa date regole.

- Sulla *Scheda Gel:*

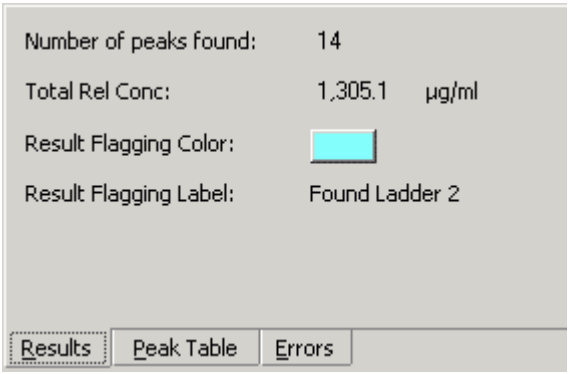


Il puntino in cima alla corsia è colorato se il campione soddisfa una regola di evidenziazione.

- Sulla piccola immagine del gel sul *Pannello inferiore:*



- Nella scheda *Results* (Risultati):



Result Flagging Color (Colore evidenziazione risultati): colore della regola di evidenziazione che il campione attuale soddisfa.

Result Flagging Label (Etichetta evidenziazione risultati): etichetta della regola di evidenziazione che il campione attuale soddisfa.

Come definire le regole di evidenziazione dei risultati

Sono disponibili due modalità per la definizione delle regole di evidenziazione dei risultati:

- Modalità *assistita*

  In questa modalità è possibile comporre facilmente un'espressione selezionando funzioni e operatori da elenchi forniti. Se necessario, devono essere forniti attributi aggiuntivi.

  Selezionando un operatore logico (`AND/AND NOT/OR/OR NOT`), possono essere combinati ulteriori termini per formare un'espressione più complessa. L'ultimo termine dell'espressione termina con l'operatore `NONE`.

- Modalità *avanzata*

  Questa modalità è più flessibile e consente di scrivere espressioni arbitrarie complesse utilizzando funzioni, variabili ed operatori.

SUGGERIMENTO

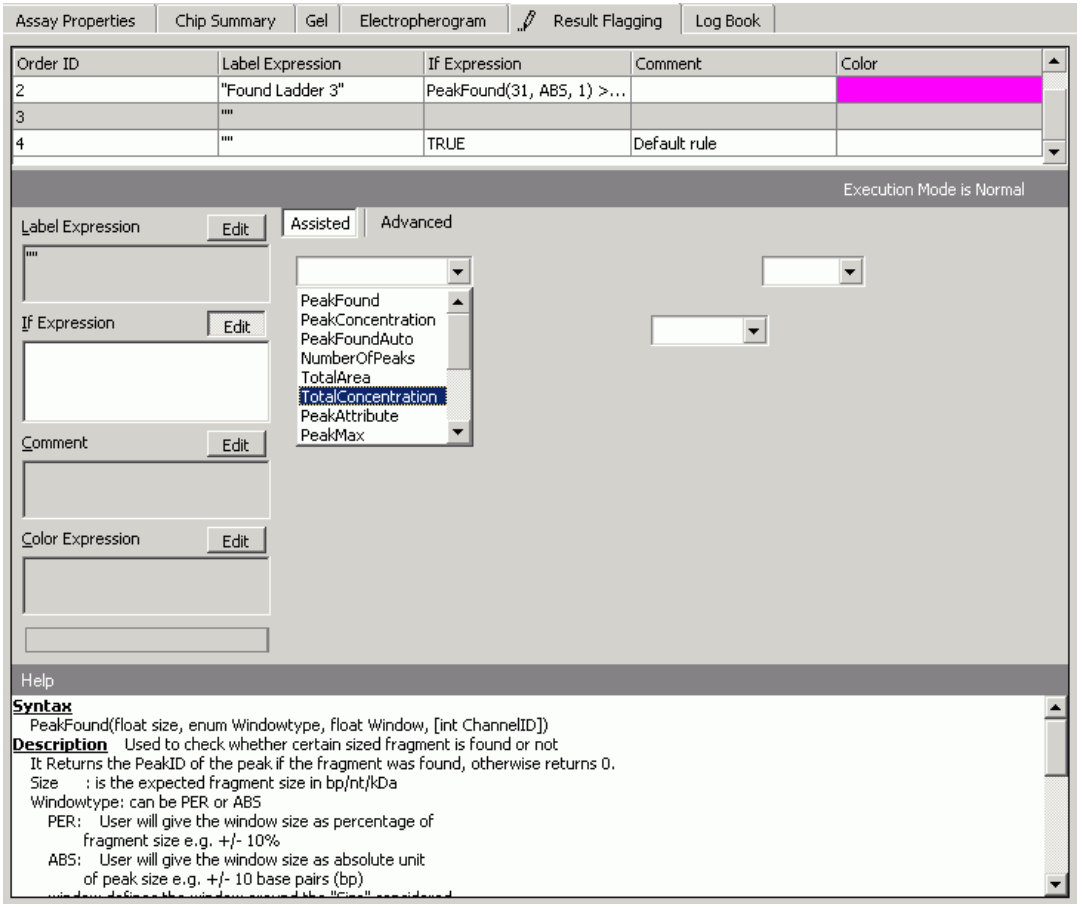
Le regole di evidenziazione dei risultati possono essere esportate da altri file di analisi o dati dei chip. Vedere la sezione "Esportazione delle regole di evidenziazione dei risultati" a pagina 322 e "Importazione delle regole di evidenziazione dei risultati" a pagina 310.

Per definire una regola di evidenziazione dei risultati per un'analisi elettroforetica:

1. Nel contesto *Data and Assay* (Dati e analisi) aprire e selezionare un file di dati del chip (.xad) o di analisi (.xsy).
2. Passare alla scheda *Result Flagging* (Evidenziazione risultati).
3. Creare una nuova regola facendo clic sul pulsante *Add Rule*  (Aggiungi regola) sulla barra dei risultati *Result Flagging* (Evidenziazione dei risultati).
4. Selezionare la regola dall'elenco delle regole nella parte alta della scheda.
5. Utilizzare il pulsante *Edit* (Modifica) per passare da una all'altra delle sezioni *Label Expression* (Espressione etichetta), *If Expression* (Espressione se), *Comment* (Commento) e *Color Expression* (Espressione colore).

6 Inserire un'espressione nella finestra *If Expression* (Espressione se)

Le espressioni possono essere composte effettuando delle selezioni sugli elenchi a tendina sulla destra ed inserendo i valori. Espressioni multiple possono essere combinate con gli operatori logici AND, AND NOT, OR, OR NOT. Vedere la sezione "Scheda Result Flagging (Evidenziazione dei risultati)" a pagina 557 per le funzioni, gli operatori e le variabili disponibili.



NOTA

Vedere il riferimento della funzione sul *Riquadro della Guida in linea* (che viene visualizzato quando si seleziona una funzione dell'elenco) per informazioni dettagliate sulla sintassi, sull'uso e sugli esempi.

7 In *Color Expression* (Espressione colore) definire un colore per la regola.

Tutti i campioni che soddisfano la regola saranno evidenziati con questo colore (vedere la sezione "Indicazione del colore" a pagina 183). Se la casella di controllo *Gradient* (Gradiente) è abilitata, è possibile assegnare un gradiente di colore ad ogni regola (per esempio, per visualizzare differenze nella concentrazione).

8 È anche possibile creare regole aggiuntive (*Add Rule* ), copiare regole esistenti (*Copy Rule* ) e rimuoverle (*Delete Rule* ). Selezionare la regola che si desidera copiare, rimuovere o modificare dall'elenco delle regole nella parte alta della scheda.

9 Utilizzare i pulsanti *Move Up*  (Sposta in alto) e *Move Down*  (Sposta in basso) per definire la sequenza delle regole.

In modalità normale la prima regola dell'elenco sarà controllata per prima. Se il campione non soddisfa questa regola, verrà controllata la seconda regola, e così via. La regola predefinita è sempre l'ultima regola dell'elenco e non può essere spostata.

10 Fare clic su *Apply Rules*  (Applica regole) per validare le regole ed applicarle ai risultati dell'analisi (se presenti).

11 Se viene visualizzato il messaggio "Regole non valide", le regole non vengono applicate. Fare clic su *OK* e controllare la sintassi delle regole.

12 Sul menu *File*, selezionare *Save* (Salva) per memorizzare le regole nel file di dati del chip o di analisi attuale.

Esempio: Result Flagging (Evidenziazione dei risultati)

Il campione 1 contiene 100 ng/µl di proteine. L'elettroferogramma mostra 2 picchi per 2 diverse proteine, che possono essere separati. Un picco può essere trovato a 32 kDa (LDH).

Il campione 2 contiene 60 ng/µl di proteine e presenta 3 picchi.

Il campione 3 contiene 80 ng/µl di proteine e presenta 5 picchi.

Ora vengono definite le seguenti regole (la sintassi è descritta in "Scheda Result Flagging (Evidenziazione dei risultati)" a pagina 557):

1. C'è un picco a 30 kDa +/- 7%?

   Regola 1: `PeakFound(30, PER, 7)`

2. La concentrazione totale di proteine è superiore a 90 ng/µl?

   Regola 2: `TotalConcentration() > 90`

3. Sono stati trovati da 1 a 5 picchi?

   Regola 3: `Rule 3: NumberOfPeaks() = 5 AND NumberOfPeaks = 10><`

   Regola alternativa 3: `Alternative rule 3: NumberOfPeaks() BETWEEN (5,10)`

L'applicazione di queste regole nell'ordine dato (in modalità *Normale)* porta ai seguenti risultati.

Per il campione 1 la regola 1 è verificata e definisce il colore. Anche la regola 2 può essere verificata, ma non viene controllata perché la procedura si arresta alla prima regola che risulta verificata.

Per il campione 2 nessuna delle regole risulta verificata, se non sono presenti picchi a 30 kDa +/- 7%. Pertanto questo campione avrà il colore predefinito.

Per il campione 3 solo la regola 3 è verificata e definisce il colore.

Esecuzione e valutazione di un'analisi citometrica a flusso

Per l'esecuzione e la valutazione di un'analisi citometrica a flusso, occorre conoscere quanto segue:

- “Principi delle misurazioni citometriche a flusso” a pagina 193
- “Panoramica dell'analisi citometrica a flusso” a pagina 202
- “Preparazione ed esecuzione di un'analisi citometrica a flusso” a pagina 206
- “Analisi e valutazione dei risultati di un'analisi citometrica a flusso” a pagina 237

Principi delle misurazioni citometriche a flusso

Oltre ai test elettroforetici (DNA, RNA, e proteine), bioanalizzatore Agilent 2100 supporta le analisi citometriche a flusso:

- Per prima cosa le cellule vengono colorate con sostanze fluorescenti che corrispondono a parametri biologici significativi, secondo quanto descritto nelle note applicative relative ad ogni tipo di analisi. "Colorazione delle cellule" a pagina 194 descrive il principio.
- Successivamente le cellule colorate vengono analizzate sul chip. Passano in fila indiana attraverso il rivelatore che analizza l'intensità della loro colorazione fluorescente rossa o blu. I risultati vengono visualizzati in forma di istogramma o di dot-plot. Vedere la sezione "Rivelazione delle cellule con Bioanalizzatore Agilent 2100" a pagina 196 per una descrizione dettagliata.

Colorazione delle cellule

Con il software 2100 expert, è possibile differenziare diverse proprietà delle cellule. Le caratteristiche che vengono esaminate dipendono dal tipo di colorante utilizzato, che si lega in modo specifico ad un componente delle cellule o viene metabolizzato dalle cellule per generare una sostanza fluorescente. Normalmente vengono utilizzati due coloranti con colori diversi. Tipicamente, uno dei due coloranti viene utilizzato come riferimento per selezionare le cellule target (vive/morte, tipo di linea cellulare, ecc.) Il secondo colorante può essere utilizzato per rilevare un'altra caratteristica delle cellule.

Coloranti consigliati

La tabella seguente elenca i coloranti più adatti per le specifiche ottiche di rivelazione (Massimo di eccitazione: 470 e 630 nm; Massimo di emissione: 525 e 680 nm).

Per la colorazione *blu* si consiglia l'utilizzo dei seguenti coloranti:

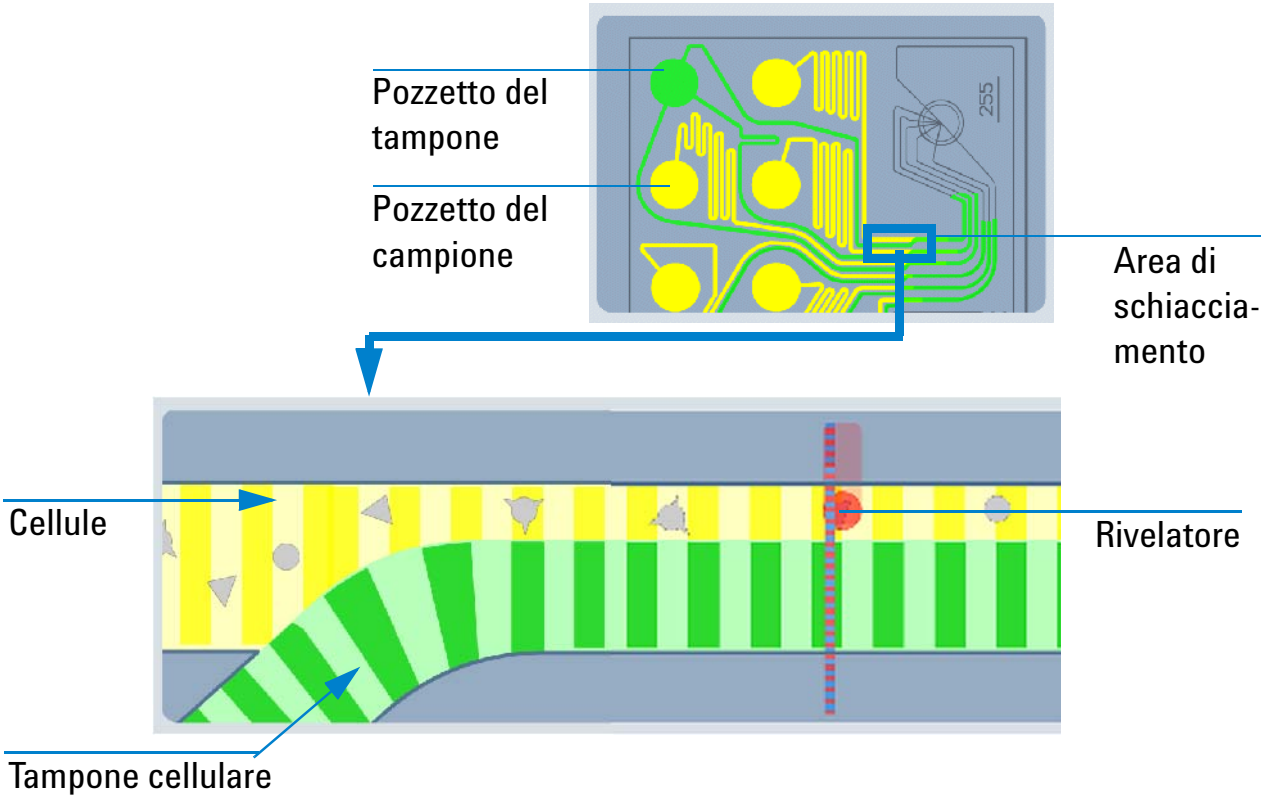
Colorante (blu fluorescente)	Lunghezza d'ona massimo eccitazione	Max. lunghezza d'onda massimo di emissione
Calceina (colorazione cellule viventi)	493 nm	514 nm
Cell Tracker verde (tracciamento cellule, fattibilità colorazione)	492 nm	517 nm
GFP (proteina verde fluorescente)	490 nm	510 nm
SYTO16 (colorante DNA)	485 nm	530 nm

Per la colorazione *rossa* si consiglia l'utilizzo dei seguenti coloranti:

Colorante (rosso fluorescente)	Lunghezza d'onda massimo eccitazione	Lunghezza d'onda massimo emissione
CBNF (Carbossinaftofluoresceina, colorazione cellule viventi)	595 nm	675 nm
APC (Alloficocianina, colorazione intra ed extra cellulare degli anticorpi)	650 nm	660 nm
Cy5 (Streptavidin marcato e anti-IgG marcato, apoptosi, colorazione intra ed extra cellulare degli anticorpi)	647 nm	665 nm
Alexa 647	650 nm	668 nm

Rivelazione delle cellule con Bioanalizzatore Agilent 2100

La tecnologia LabChip consente l'analisi delle cellule tramite integrazione del flusso cellulare, focalizzazione idrodinamica e rivelazione a fluorescenza in chip microfluidico. Una sospensione di cellule può essere confinata o "schiacciata" in una porzione del canale microfluidico, costringendo le cellule a disporsi in fila indiana per poter essere analizzate una ad una. Le immagini seguenti illustrano il processo di "schiacciamento".



In un singolo chip è possibile analizzare fino a sei campioni di cellule. Queste vengono analizzate in sequenza.

Eventi di analisi

Il bioanalizzatore conteggia le cellule colorate con il colorante fluorescente e misura l'intensità della loro fluorescenza. Ogni cellula o elemento attivo che attraversa il rivelatore ed emette una fluorescenza d'intensità superiore al valore di soglia, viene contato come un evento. Per ogni evento, viene registrata l'intensità dei due diversi segnali fluorescenti (rosso e blu). L'intensità del segnale fluorescente dipende dalla quantità di colorante legato alle cellule (e pertanto dalla proprietà specifica delle cellule) e dalle proprietà fisiche del colorante stesso.

Il bioanalizzatore 2100 Agilent consente di determinare il numero di cellule caratterizzate da uno specifico pattern di fluorescenza.

Per esempio, per differenziare le cellule vive da quelle morte, si può utilizzare un colorante non fluorescente che diventa fluorescente quando viene metabolizzato da cellule viventi. Dopo la colorazione con questo tipo di cellule, le cellule viventi avranno un valore di fluorescenza decisamente più elevato rispetto alle cellule morte. Il secondo colorante potrebbe legarsi ad un marker superficiale specifico di una sottopopolazione di cellule. Questo consente di determinare il numero di cellule viventi che contengono il marker d'interesse.

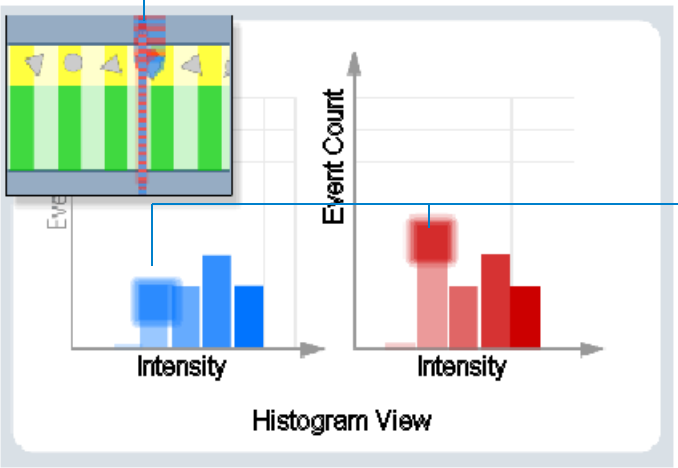
Per la valutazione, 2100 expert visualizza i risultati in forma di istogrammi e dot-plot.

Generazione degli istogrammi

2100 expert conteggia gli eventi, li ordina e li visualizza sotto forma di istogrammi in base all'intensità della loro fluorescenza. Per ogni colore misurato, un istogramma visualizza il numero degli eventi correlato all'intensità della fluorescenza. Un alto numero di eventi con un valore di fluorescenza elevato significa che è stato rilevato un numero elevato di cellule contenenti il colorante fluorescente.

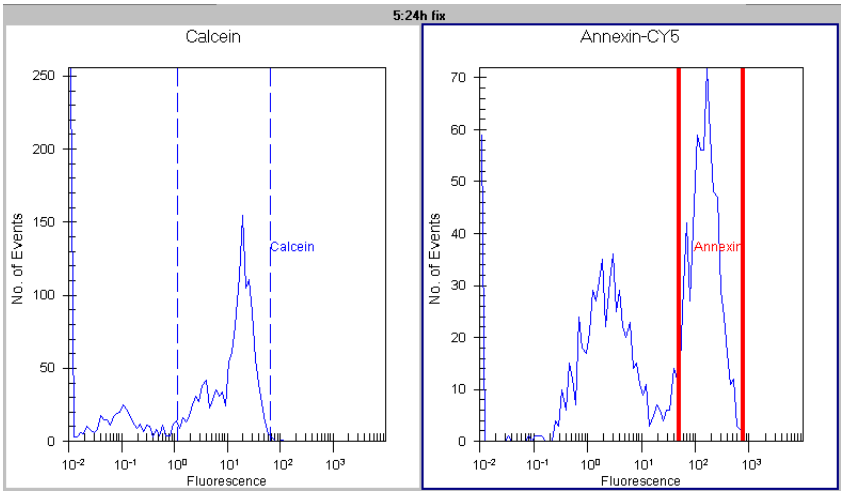
Nell'illustrazione seguente, vengono evidenziate le cellule fluorescenti di entrambi i colori.

Quando le cellule passano attraverso il rivelatore, vengono misurati i valori della sua fluorescenza ed il conteggio viene aumentato per entrambi i canali dell'intensità appropriata.



Rappresenta le cellule che fluorescono in blu ed in rosso. L'altezza delle barre è correlata al numero di cellule con questo valore di fluorescenza.

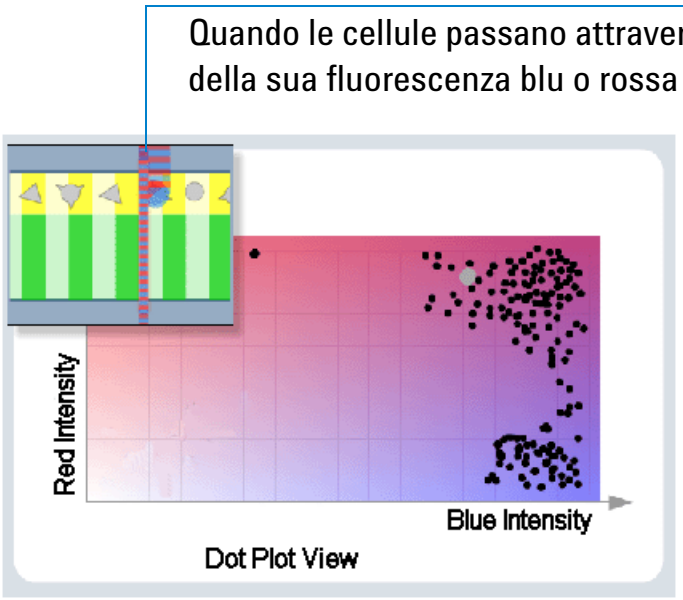
Nell'istogramma, il grafico a barre viene sostituito da una linea punto per punto come mostrato dall'immagine seguente.



Per informazioni dettagliate, vedere la sezione “Utilizzo degli istogrammi per la valutazione” a pagina 238.

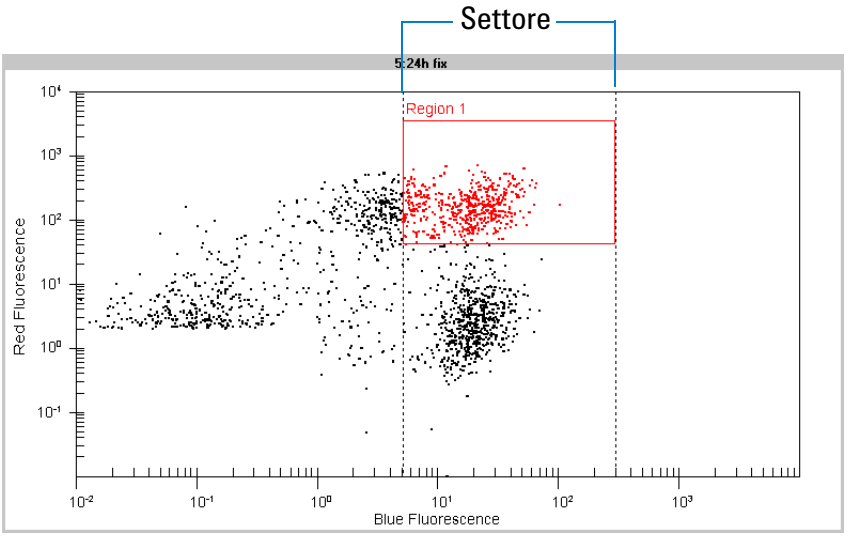
Generazione dot-plot

I singoli eventi possono essere anche visualizzati in base ad entrambi i valori della fluorescenza generando una mappa dot-plot. Nel formato dot-plot, gli eventi (cellule con un'intensità di fluorescenza superiore ad un valore minimo) vengono presentati in un sistema di coordinate (scala logaritmica). Ogni asse rappresenta uno dei colori della fluorescenza. Un numero di eventi (cellule) con valori di fluorescenza simili vengono visualizzati come un denso aggregato di punti, come mostrato nell'immagine seguente.


Quando le cellule passano attraverso il rivelatore, i valori della sua fluorescenza blu o rossa vengono misurati.
Red Intensity
Blue Intensity
Dot Plot View

Per determinare il numero di cellule il cui valore di fluorescenza blu o rossa cade entro un determinato range, è possibile stabilire delle aree. Inoltre, è possibile impostare un filtro per ottenere i valori percentuali di fluorescenza rossa o blu su una determinata popolazione.

In analisi predefinite, i confini dell'area rettangolare rappresentano i marker definiti in corrispondenza degli istogrammi del blu e del rosso.



L'area inferiore sinistra di un dot-plot normalmente non presenta eventi, a causa della soglia di rilevazione del picco che il valore della fluorescenza deve superare.

Per informazioni dettagliate, vedere la sezione “Utilizzo dei dot-plot per la valutazione” a pagina 260.

Panoramica dell'analisi citometrica a flusso

Per misurare le caratteristiche delle cellule non è sufficiente specificare il tipo di colorante. Per controllare i parametri di misurazione e di acquisizione dei dati occorre specificare diversi parametri di analisi. Questi cosiddetti "setpoint" vengono memorizzati in file di analisi (.xsy) e vengono letti dal 2100 expertsoftware prima di iniziare l'analisi.

2100 expert supporta le seguenti analisi basate sulla citometria a flusso:

Analisi predefinite

- *Apoptosi*
- *Apoptosi – Protocollo veloce*

  Per interferenza ridotta questa analisi presenta un aumento della soglia ed utilizza gli eventi blu solo per la rivelazione dei picchi.
- *Colorazione anticorpi*
- *Colorazione anticorpi su chip*

  Per interferenza ridotta questa analisi presenta un aumento della soglia relativa al segnale blu.
- *GFP*
- *GFP su chip*

  Questa analisi consente una rivelazione rapida ed accurata dell'espressione verde fluorescente delle proteine.

- *Da blu a rosso*

  Questa analisi è dedicata alle applicazioni che utilizzano un colorante di riferimento blu ed analizzano le cellule fluorescenti rosse all'interno di una popolazione blu.

- *Da rosso a blu*

  Questa analisi è dedicata alle applicazioni che utilizzano un colorante di riferimento rosso ed analizzano le cellule fluorescenti blu all'interno di una popolazione rossa.

- *Elementi attivi di controllo*

  Gli elementi attivi di controllo di colore rosso vengono caricati nei pozzetti 1, 3 e 5 mentre gli elementi attivi di controllo di colore blu vengono caricati nei pozzetti 2, 4 e 6. Vengono impostati dei marker sulla base dei livelli di fluorescenza attesi per gli elementi attivi rossi e blu. L'analisi degli *Elementi attivi di controllo*ha le proprietà di un'analisi generica (vedi sotto).

- *Fattibilità di transfezione siRNA*

  L'analisi dell'efficienza della trasfezione è descritta nella Nota applicativa *siRNA transfection optimization with the Agilent 2100 bioanalyzer* (Codice pubblicazione Agilent: 5988-9782EN). Questa analisi consente di effettuare il calcolo automatico dell'*efficienza di transfezione* (TE) in formato d'istogramma e la *viabilità in cellule transfette* (ViT) in formato dot-plot. Le direzioni e le aree necessarie per la determinazione dei settori vengono fornite come esempio, ma possono essere modificate. La viabilità di transfezione finale (TV) può essere calcolata moltiplicando i valori di TE e ViT derivati dagli istogrammi e dot-plot.

L'impostazione di analisi predefinite vengono ottimizzate per la misurazione di caratteristiche delle cellule appropriate. Per la valutazione, è semplicemente necessario regolare i marker sugli istogrammi o le aree sui dot-plot.

Le analisi predefinite contengono tutti i marker e le aree necessari per la valutazione. Vengono date le indicazioni per la direzione del filtro degli istogrammi (per informazioni dettagliate sulle indicazioni per la creazione dei settori, vedere la sezione “Filtro” a pagina 240). Vengono collegati i marker di tutti i campioni (modificando un marker si modificano i marker corrispondenti di tutti i campioni).

Le aree dei dot-plot vengono correlate ai marker degli istogrammi. In questo modo, i risultati dei dot-plot sono identici ai risultati degli istogrammi.

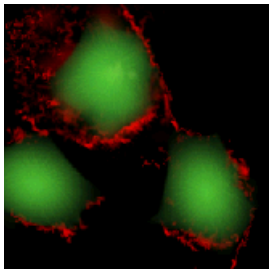
Analisi generica

Questa analisi non presenta impostazioni specifiche e può essere utilizzata per definire singole analisi. È possibile aggiungere liberamente marker o aree e definire le istruzioni per la direzione del filtro.

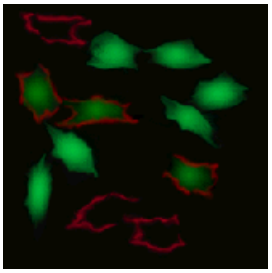
L'analisi generica è consigliata per chip con campioni e colorazioni diverse, dove le aree dovrebbero essere definite singolarmente. Le aree dei dot-plot e degli istogrammi non sono collegate, rendendo possibile la valutazione di un singolo campione con impostazioni diverse.

Icone dell'analisi citometrica a flusso

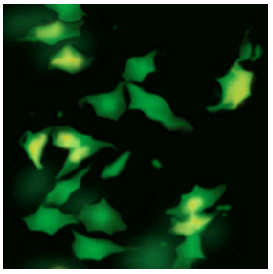
Sulla scheda *Assay Properties* (Proprietà dell'analisi) (vedere la sezione "Scheda Assay Properties (Proprietà d'analisi)" a pagina 487), per visualizzare i tipi di analisi vengono utilizzate le seguenti icone:



Colorazione anticorpi
Da blu a rosso



Apoptosi



GFP
Da rosso a blu



Generica
Elementi attivi di controllo
Fattibilità di transfezione siRNA

Preparazione ed esecuzione di un'analisi citometrica a flusso

Un'analisi citometrica a flusso su chip richiede i seguenti passaggi:

1. Impostare ed accendere il bioanalizzatore Agilent 2100.

   Vedere la sezione "Come passare dall'analisi elettroforetica all'analisi citometrica a flusso e viceversa" a pagina 52.

2. Avviare il software 2100 expert.

   Ulteriori dettagli in "Avvio di 2100 Expert" a pagina 34.

3. Selezionare un tipo di analisi citometrica a flusso.

   Vedere la sezione "Selezione di un tipo di analisi citometrica a flusso per l'analisi di un chip" a pagina 208.

4. Preparare chip e campioni.

   Vedere la sezione "Preparazione di campioni e chip per l'analisi citometrica a flusso" a pagina 213 e la relativa *Nota applicativa* e *Guida del kit di reagenti*.

5. Caricare il chip nel bioanalizzatore.

   Per informazioni dettagliate, vedere la sezione "Caricamento del chip per le cellule nel bioanalizzatore" a pagina 217.

6. Avviare l'analisi del chip.

   Questa analisi è descritta nella "Esecuzione di un'analisi citometrica a flusso" a pagina 220.

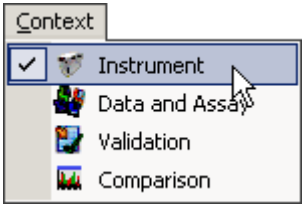
Al termine dell'analisi del chip, è possibile:

- Dare una prima occhiata ai risultati (vedere la sezione "Visualizzazione dei risultati d'analisi (Citometria a flusso)" a pagina 230).
- Documentare l'analisi del chip (vedere la sezione "Inserimento di informazioni relative a chip, campione e studio" a pagina 228).
- Analizzare e valutare i risultati:
  - "Utilizzo degli istogrammi per la valutazione" a pagina 238
  - "Utilizzo dei dot-plot per la valutazione" a pagina 260
  - "Valutazione delle analisi di colorazione degli anticorpi, apoptosi e GFP" a pagina 271

Selezione di un tipo di analisi citometrica a flusso per l'analisi di un chip

Per selezionare un tipo di analisi:

1 Passare al contesto *Instrument* (Strumento).



2 Su *Pannello della struttura ad albero*, selezionare il bioanalizzatore che si desidera utilizzare.



Nell'angolo superiore sinistro della scheda *Instrument* (Strumento), un'icona mostra lo stato del bioanalizzatore. Viene visualizzata una delle seguenti icone (coperchio aperto/chiuso), che indica che il bioanalizzatore è stato rilevato dal sistema.





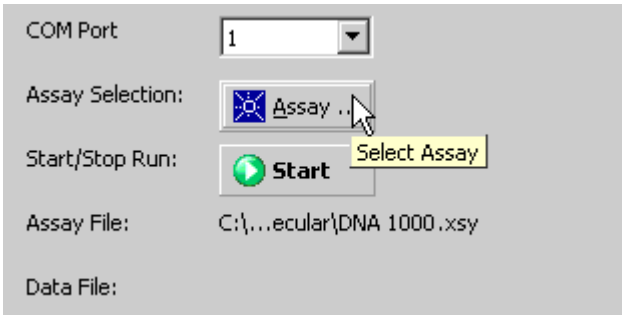
3 Se nessuna di queste icone è visibile, controllare che il bioanalizzatore sia acceso e connesso correttamente:

- Verificare le impostazioni dell'opzione *COM Port* (Porta COM).
- Verificare che il bioanalizzatore sia fisicamente connesso al PC (tramite l'interfaccia seriale).
- Controllare la connessione del cavo di alimentazione.
- Controllare l'interruttore di accensione.

Per ulteriore aiuto, vedere la *Guida alla manutenzione e risoluzione dei problemi del Bionalizzatore Agilent 2100*.

4 Selezionare un tipo di analisi per l'analisi del chip.

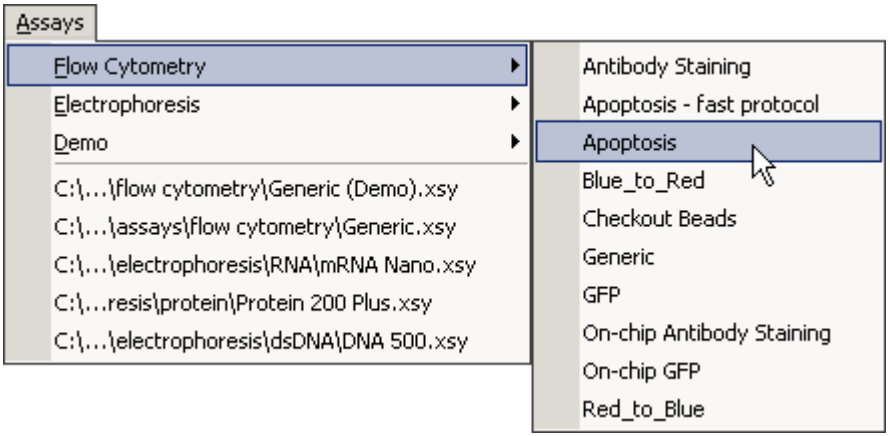
Nella scheda *Instrument* (Strumento), fare clic sul pulsante *Assay...* (Analisi).



– OPPURE –

Fare clic sul menu *Assays* (Analisi).

In entrambi i casi si apre il menu *Assays* (Analisi), che consente di selezionare un tipo di analisi dai sottomenu.



– OPPURE –

Selezionare *File* > *Open File to Run...* (File > Apri file da eseguire).

Il tipo di analisi selezionata dipende dall'esperimento e dal protocollo di colorazione utilizzato per preparare i campioni di cellule. I dettagli di queste analisi sono descritti nelle *Note applicative* disponibili per ogni analisi.

5 Selezionare il tipo di analisi desiderato per esempio, *Apoptosi*.

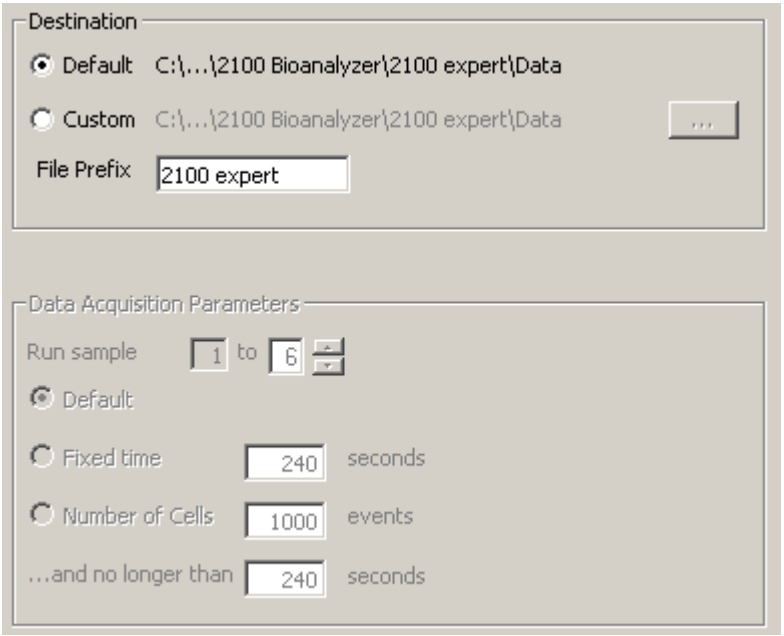
Il tipo di analisi viene caricato ed il suo nome compare sulla *Barra delle informazioni*:



NOTA

Dopo che un chip è stato analizzato, i risultati ottenuti possono essere valutati utilizzando un file di dati di un chip per l'analisi citometrica a flusso differente oppure un file d'analisi. Vedere la sezione “Importazione di impostazione di analisi dei dati” a pagina 307.

6 Selezionare una *Destination* (Destinazione) per il file di dati del chip (.xad) generato come risultato dell'analisi del chip.



7 Se necessario, modificare i *Parametri di acquisizione dei dati*:

a Inserire il numero di campioni che si desidera analizzare.

Nella preparazione del chip (vedere la sezione "Preparazione di campioni e chip per l'analisi citometrica a flusso" a pagina 213), seguire la sequenza dei pozzetti del campione. Per esempio, se si vogliono analizzare 3 campioni, riempire i pozzetti 1, 2 e 3 con i campioni ed i pozzetti restanti con la soluzione di tampone cellulare.

b Selezionare la modalità di acquisizione dei dati.

Selezionare *Default* (Predefinito), se si desidera impostare il tempo di analisi sul valore predefinito (240 s/campione). Tra parentesi viene mostrato il tempo massimo.

– OPPURE –

Selezionare *Fixed time* (Tempo fisso) ed inserire il tempo in [s] di durata dell'analisi di ogni campione.

– OPPURE –

Selezionare *Number of Cells* (Numero di cellule) ed inserire il numero minimo di *eventi* che deve essere misurato. Nel campo *... and no longer than* (...Non più di), inserire il tempo massimo in [s] di durata di una misurazione, indipendentemente dal raggiungimento del numero di eventi definito. Tra parentesi viene mostrato il tempo massimo.

NOTA

Il tempo totale di analisi per un chip è limitato a 1440 s. Il singolo tempo d'analisi di un campione dipende dal numero di campioni misurati per ogni chip. Se deve essere analizzato un solo campione, il tempo di analisi può essere impostato fino a 1441 s.

Preparazione di campioni e chip per l'analisi citometrica a flusso

AVVISO

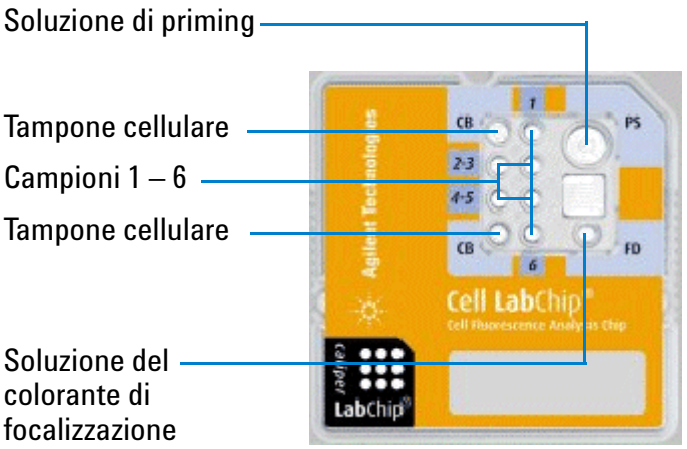
Diverse sostanze, come ad esempio i coloranti, possono essere potenzialmente tossiche, cancerogene o mutagene. Pertanto, è opportuno seguire le istruzioni di sicurezza presenti sulla scheda di sicurezza del colorante oltre alle *Guide dei kit di reagenti*. **Leggere anche le "Pratiche d'analisi essenziali (Analisi citometrica a flusso)" a pagina 215.**

Prima di poter riempire un chip, occorre preparare il campione. Per identificare il protocollo da utilizzare per preparare i campioni, vedere le varie *Note applicative* disponibili per ogni analisi.

La preparazione del campione e del chip è descritta dettagliatamente nella *Guida dei kit di reagente* disponibile per ogni kit LabChip.

Reagenti per il chip

Per preparare il chip per l'analisi occorre aggiungere diversi reagenti. L'immagine seguente mostra in quali pozzetti devono essere aggiunti i vari reagenti.



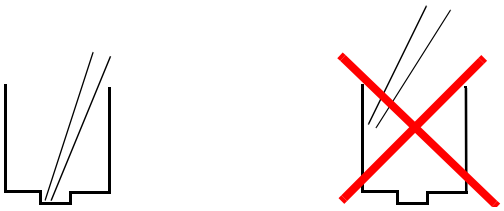
Seguire queste indicazioni durante la preparazione del campione:

- La soluzione di priming deve essere aggiunta per prima. Riempie tutti i canali (rimuove tutta l'aria dai microcanali).
- La soluzione del colorante di focalizzazione viene utilizzata per regolare l'ottica. L'ottica viene focalizzata orizzontalmente e verticalmente prima dell'analisi di ogni chip.
- Se non si utilizzano tutti i sei pozzetti, caricare sempre il primo campione nel pozzetto 1, il secondo campione nel pozzetto 2, ecc. I pozzetti inutilizzati devono essere riempiti di tampone cellulare, altrimenti si potrebbero asciugare durante l'analisi del chip. Dato che tutti i canali sono collegati al pozzetto dell'adescante, questo potrebbe portare alla formazione di bolle e al blocco del filtro dell'adattatore di pressione.

- Il tampone cellulare viene utilizzato per focalizzare le cellule prima che passino nel punto di rivelazione. Riempire entrambi i pozzetti del tampone con tampone cellulare.

Pratiche d'analisi essenziali (Analisi citometrica a flusso)

- Maneggiare e conservare tutti i reagenti secondo quanto indicato dalle *Guide dei kit di reagente*.
- Evitare sorgenti di polvere o altri contaminanti. Corpi estranei presenti nei reagenti, nel campione o nei pozzetti del chip, possono interferire con i risultati dell'analisi.
- Conservare tutti i reagenti e le miscele di reagenti non in uso a 4°C e al buio.
- Lasciare equilibrare a temperatura ambiente per 30 minuti tutti i reagenti prima dell'uso.
- Proteggere dalla luce la soluzione del colorante di focalizzazione. Il colorante si decompone quando viene esposto alla luce.
- Utilizzare puntali della pipetta appropriati. Per ogni pipettaggio utilizzare un puntale nuovo.
- Durante l'erogazione del liquido, inserire sempre il puntale della pipetta fino sul fondo del pozzetto. Posizionando il puntale della pipetta sul bordo del pozzetto si possono ottenere risultati scarsi a causa della formazione di bolle sul fondo del pozzetto.



- Per la preparazione del chip, utilizzare il pipettaggio inverso.
- Durante il riempimento del puntale della pipetta, spingere leggermente oltre il primo punto di resistenza. Svuotare il puntale solo fino al primo punto di resistenza. Questa procedura evita l'introduzione di bolle d'aria ed assicura il pipettaggio del volume corretto.
- Non lasciare mai i pozzetti vuoti, altrimenti l'adattatore di pressione si potrebbe bloccare. Pipettare 10 µl di tampone cellulare o di repliche del campione in un pozzetto per il campione vuoto.
- Prima della preparazione degli elementi, agitare con vortex per 15 secondi la vial con gli elementi.
- I chip preparati devono essere utilizzati entro 5 minuti. Se un chip non viene analizzato entro 5 minuti, gli elementi possono depositarsi o i reagenti possono evaporare portando a risultati scarsi dell'analisi.
- Non toccare in nessun caso le lenti dello strumento.
- Non toccare il bioanalizzatore Agilent 2100 durante l'analisi di un chip e non metterlo mai su una superficie che può vibrare.

Caricamento del chip per le cellule nel bioanalizzatore

Dopo averlo preparato, il chip può essere inserito nel bioanalizzatore Agilent 2100.

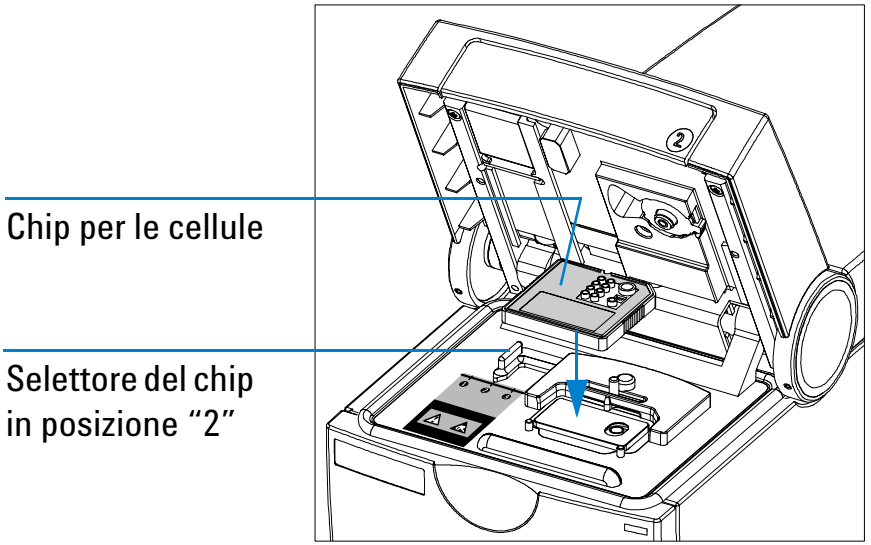
NOTA

Prima di inserire il chip, controllare di aver inserito la cartuccia di pressione e che il selettore del chip sia sulla posizione "2". Per informazioni dettagliate, vedere la sezione “Come passare dall'analisi elettroforetica all'analisi citometrica a flusso e viceversa” a pagina 52.

Per caricare il chip nel bioanalizzatore bioanalizzatore Agilent 2100:

1. Aprire il coperchio.
2. Mettere nell'apposito alloggiamento il chip preparato.

   Il chip può essere inserito solo in una posizione. Non forzare per inserirlo.

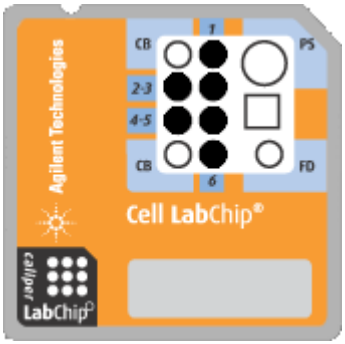


3 Chiudere il coperchio con cautela.

ATTENZIONE

Non forzare per chiudere il coperchio. Si corre il rischio di danneggiare la cartuccia a pressione. Il coperchio potrebbe non chiudersi completamente. Quando il software riconosce che è stato inserito un chip, il sistema è pronto. Se il chip non viene riconosciuto, aprire il coperchio e verificare che la cartuccia ed il chip siano stati inseriti in modo corretto e che il selettore del chip sia nella posizione corretta. Chiudere il coperchio.

L'adattatore con la guarnizione sulla cartuccia si adatta perfettamente al pozzetto di priming sul chip. Un piccolo spazio tra il coperchio e la struttura dello strumento è normale e non provoca malfunzionamento. L'icona sulla scheda *Instrument* (Strumento) diventa l'icona di un chip per cellule:



Se il chip non viene rilevato, aprire e richiudere il coperchio ancora una volta.

NOTA

Se l'opzione *AutoRun* (Esecuzione automatica) è attiva (vedere la sezione "Options – Advanced (Opzioni – Avanzate)" a pagina 594), l'analisi del chip si avvia automaticamente dopo l'inserimento del chip e la chiusura del coperchio.

Esecuzione di un'analisi citometrica a flusso

Eseguire un'analisi citometrica a flusso con 2100 expert significa semplicemente premere un pulsante.

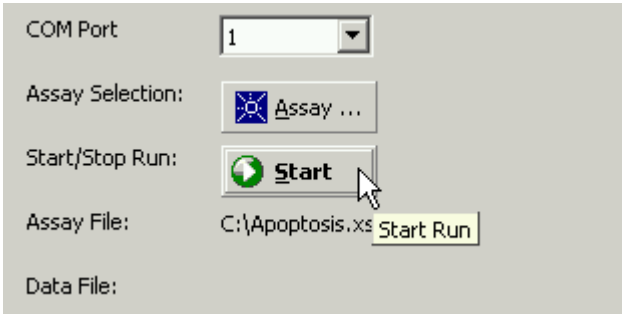
NOTA

L'analisi di un chip può essere interrotta in qualsiasi momento, per esempio, se si verifica un errore, oppure se non si è soddisfatti della qualità dei risultati osservati durante l'analisi del chip. Vedere la sezione "Interruzione dell'analisi di un chip" a pagina 225.

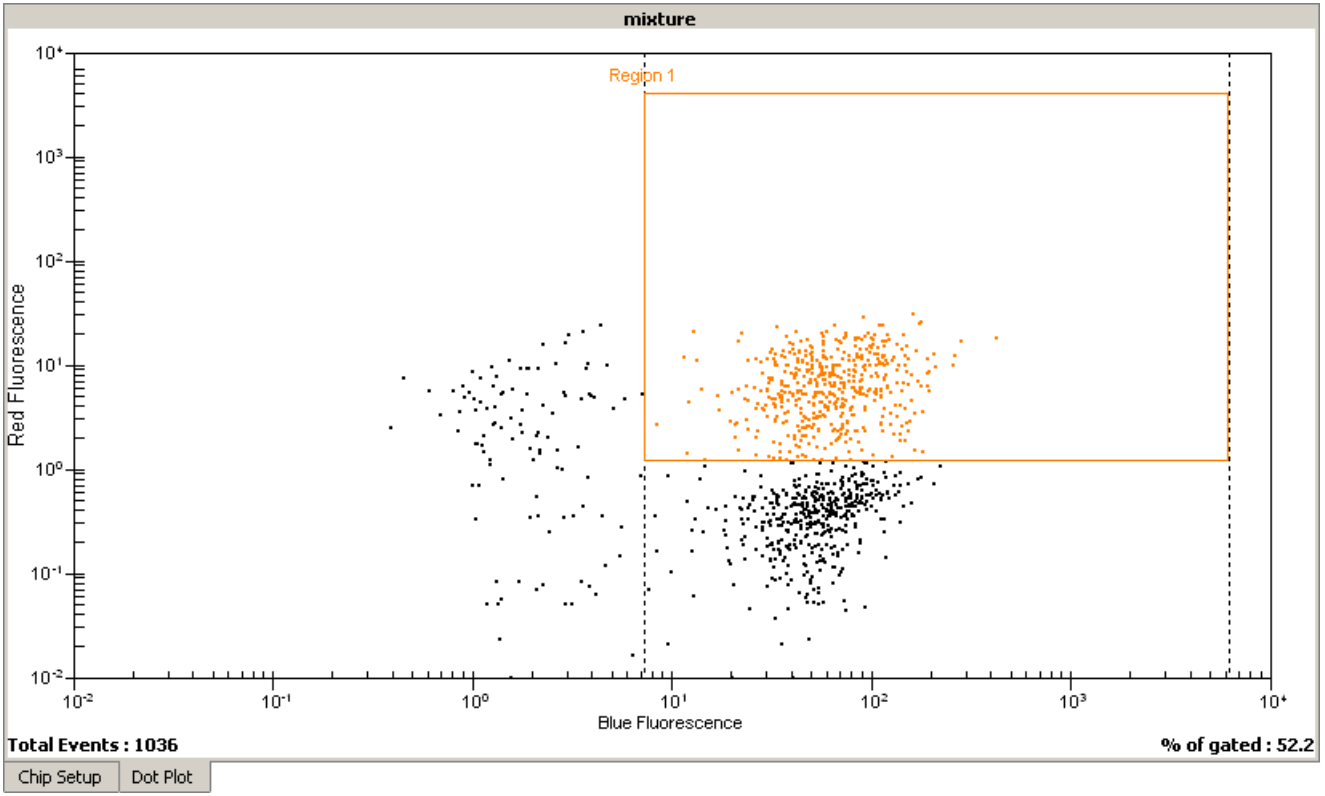
Avvio dell'analisi del chip

Quando il chip è stato caricato, si può far partire l'analisi:

1 Sulla scheda *Instrument* (Strumento), fare clic sul pulsante *Start* (Avvio).



La scheda secondaria *Dot Plot* mostra i singoli eventi (cellule) nel momento in cui vengono rivelate e visualizzate come punti. Nel sistema di coordinate, può essere letta l'intensità della fluorescenza rossa e blu di ogni evento. Sopra il grafico viene visualizzato il nome del campione analizzato in quel momento.



Il numero del campione analizzato in quel momento viene indicato sulla barra delle informazioni:

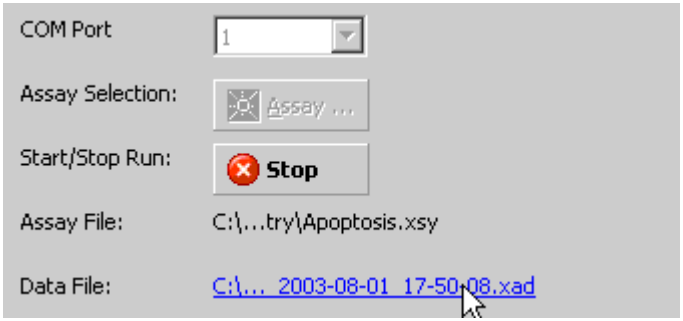


La barra di stato mostra il nome del campione misurato in quel momento, una barra di avanzamento mostra il grado di avanzamento del processo di analisi del campione attuale (non per tutta l'analisi del chip), ed il numero della porta COM utilizzata per l'acquisizione dei dati:



Durante l'analisi del chip, è possibile effettuare le seguenti operazioni:

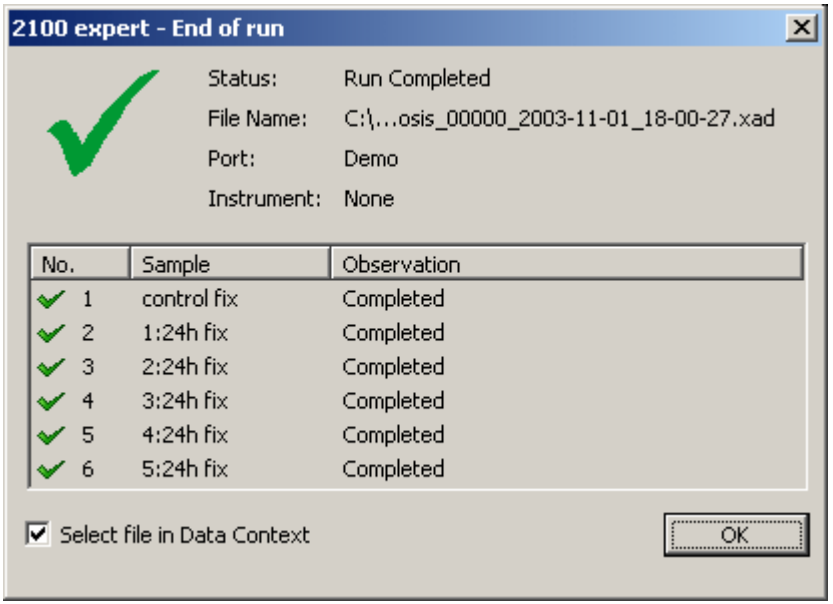
- Visualizzare il file di dati del chip nel contesto *Data and Assay* (Dati ed analisi) facendo clic sul nome del *Data File* (File di dati):



- Valutare ogni file di dati del chip nel contesto *Data and Assay* (Dati ed analisi).
- Confrontare i campioni nel contesto *Comparison* (Confronto).
- Se necessario, annullare l'analisi del chip facendo clic sul pulsante *Stop* (Interrompi) (vedere anche la sezione "Interruzione dell'analisi di un chip" a pagina 225). Tutti i dati raccolti fino al momento dell'interruzione dell'analisi verranno salvati.

Termine dell'analisi del chip

Al termine dell'analisi viene visualizzata la finestra di dialogo *End of run* (Fine dell'analisi) che mostra il numero di campioni che sono stati analizzati ed il nome del file in cui sono stati salvati i dati d'analisi del chip. Se si verificano degli errori, saranno visualizzati nella finestra di dialogo.



1. Per visualizzare immediatamente i risultati nel contesto *Data and Assay* (Dati e analisi), occorre selezionare la casella di controllo *Select file in Data Context* (Seleziona file nel contesto Dati).
2. Fare clic su *OK*.

La finestra di dialogo viene chiusa.

- Selezionando *Select file in Data Context* (Seleziona file nel contesto Dati) si viene inviati direttamente al contesto *Data and Assay* (Dati e analisi), dove è possibile visualizzare, analizzare e valutare i risultati dell'analisi del chip (vedere la sezione "Visualizzazione dei risultati d'analisi (Citometria a flusso)" a pagina 230 e"Analisi e valutazione dei risultati di un'analisi citometrica a flusso" a pagina 237).
- Se invece *non* viene selezionata la casella di controllo *Select file in Data Context* (Seleziona file nel contesto Dati), il software riporta indietro al contesto *Instrument* (Strumento) dove, per esempio, è possibile far partire una nuova analisi.

Interruzione dell'analisi di un chip

È possibile interrompere l'analisi di un chip in qualsiasi momento, per esempio:

- Se la qualità dei risultati d'analisi non soddisfa le aspettative.
- Se per esempio, dopo tre soli campioni si hanno già a disposizione tutte le informazioni richieste e si vuole analizzare un atro chip.

NOTA

Non è possibile riprendere un'analisi interrotta.

NOTA

Quando si interrompe l'analisi di un chip, l'esportazione automatica (vedere la sezione "Esportazione automatica di dati d'analisi del chip" a pagina 314) e la stampa automatica (vedere la sezione "Come attivare e configurare la stampa automatica dei report d'analisi del chip" a pagina 328) *non* vengono eseguite.

Per interrompere l'analisi:

1 Fare clic sul pulsante *Stop*.

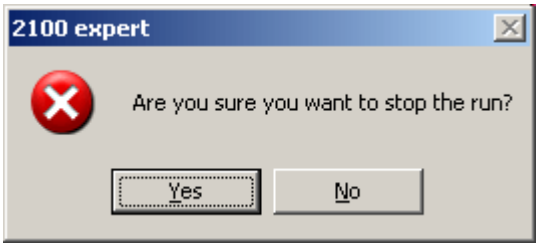
– OPPURE –

Selezionare *Stop* (Interrompi) nel menu *Instrument* (Strumento).

NOTA

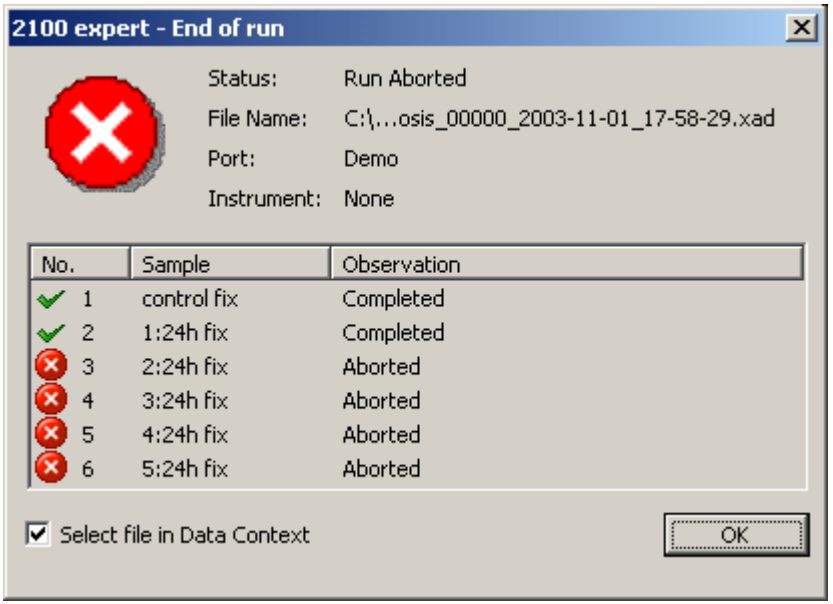
L'acquisizione dei dati del campione in analisi verrà annullata.

Vengono visualizzati i seguenti messaggi:



2 Fare clic su *Yes* (Si) per interrompere l'analisi del chip.

Viene visualizzata la finestra di dialogo *End of Run* (Fine analisi).



Il campione analizzato viene segnalato da un segno verde e solo quelli evidenziati saranno salvati sul file di dati del chip. I campioni non analizzati saranno identificati da una croce bianca in campo rosso.

3 Per visualizzare immediatamente i risultati nel contesto *Data and Assay* (Dati e analisi), occorre selezionare la casella di controllo *Select file in Data Context* (Seleziona file nel contesto Dati).

4 Fare clic su *OK*.

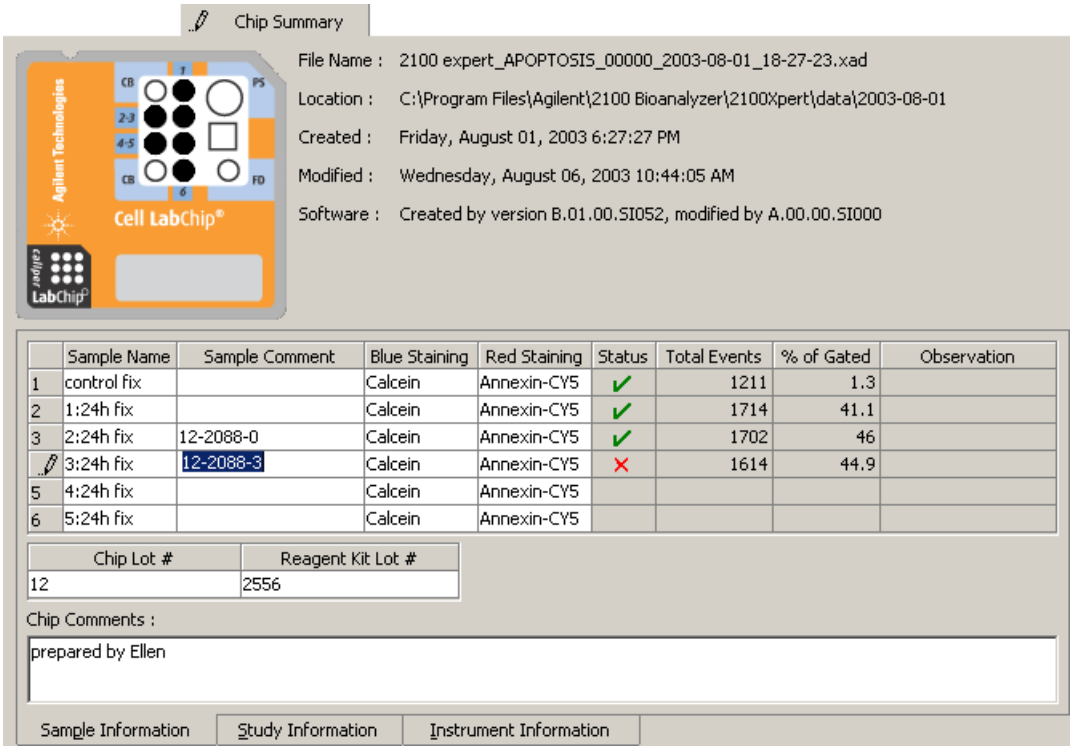
La finestra di dialogo viene chiusa.

- Selezionare *Select file in Data Context* (Seleziona file nel contesto Dati) per passare direttamente al contesto *Data and Assay* (Dati e analisi), dove è possibile visualizzare, analizzare e valutare i risultati (se presenti) dell'analisi del chip (vedere le sezioni "Visualizzazione dei risultati d'analisi (Citometria a flusso)" a pagina 230 e "Analisi e valutazione dei risultati di un'analisi citometrica a flusso" a pagina 237).
- Se invece *non* viene selezionata la casella di controllo *Select file in Data Context* (Seleziona file nel contesto Dati), il software riporta indietro al contesto *Instrument* (Strumento) dove, per esempio, è possibile far partire una nuova analisi.

Inserimento di informazioni relative a chip, campione e studio

Durante o successivamente all'analisi del chip è possibile documentare l'analisi inserendo informazioni relative al chip, ai campioni ed allo studio.

1. Nel contesto *Data and Assay* (Dati e analisi) selezionare la scheda *Chip Summary* (Riassunto chip).
2. Sulla sottotabella *Sample Information* (Informazioni campione), è possibile inserire informazioni aggiuntive per il campione, come ad esempio i nomi dei coloranti blu e rosso. Sulla sottotabella *Study Information* (Informazioni studio), per esempio è possibile inserire l'indirizzo del laboratorio ed il nome dello sperimentatore.


Chip Summary
Agilent Technologies
Cell LabChip®
LabChip
File Name : 2100 expert_APOPTOSIS_00000_2003-08-01_18-27-23.xad
Location : C:\Program Files\Agilent\2100 Bioanalyzer\2100Xpert\data\2003-08-01
Created : Friday, August 01, 2003 6:27:27 PM
Modified : Wednesday, August 06, 2003 10:44:05 AM
Software : Created by version B.01.00.SI052, modified by A.00.00.SI000
Sample Name | Sample Comment | Blue Staining | Red Staining | Status | Total Events | % of Gated | Observation
1 control fix Calcein Annexin-CY5 1211 1.3
2 1:24h fix Calcein Annexin-CY5 1714 41.1
3 2:24h fix 12-2088-0 Calcein Annexin-CY5 1702 46
3:24h fix 12-2088-3 Calcein Annexin-CY5 1614 44.9
5 4:24h fix Calcein Annexin-CY5
6 5:24h fix Calcein Annexin-CY5
Chip Lot # | Reagent Kit Lot #
12 | 2556
Chip Comments :
prepared by Ellen
Sample Information
Study Information
Instrument Information

NOTA

È possibile che alcuni campi risultino già completati perché le informazioni relative a chip, campione e studio vengono inserite sulla base dei file di analisi o dei dati del chip.

Per informazioni dettagliate su tutti i campi d'inserimento, vedere la sezione "Scheda Chip Summary (Riepilogo chip)" a pagina 497.

3 Fare clic su *Apply* (Applica).

4 Nel menu *File*, selezionare *Save* (Salva).

SUGGERIMENTO

Le informazioni relative a chip, campione e studio possono essere importate da file .txt o .csv. Questo è particolarmente utile e veloce se un chip simile è già stato documentato precedentemente in un altro file di dati del chip. Vedere la sezione "Importazione di informazioni relative a chip, campione e studio" a pagina 309 per informazioni dettagliate.

Visualizzazione dei risultati d'analisi (Citometria a flusso)

I risultati dell'analisi di un chip citometrico a flusso possono essere visualizzati in forma di istogrammi o dot-plot.

- Gli istogrammi/dot-plot possono essere visualizzati per un campione alla volta, oppure è possibile visualizzarli per tutti i campioni in una sola volta per avere una panoramica dell'analisi del chip, per esempio per vedere l'avanzamento di una reazione. Vedere la sezione "Come passare dalla visualizzazione singola alla visualizzazione a griglia" a pagina 231.
- È possibile navigare tra i vari campioni. Vedere la sezione "Come navigare tra i vari campioni" a pagina 232.
- È possibile modificare la visualizzazione degli istogrammi e dei dot-plot per rendere meglio visibili i dettagli. Vedere la sezione "Come modificare la visualizzazione degli istogrammi e dei dot-plot" a pagina 234.

Come passare dalla visualizzazione singola alla visualizzazione a griglia

Per passare dalla visualizzazione singola alla visualizzazione a griglia:

1 Dal menu *Histogram* (Istogramma) o *Dot Plot* selezionare *Single View* (Visualizzazione singola) o *Grid View* (Visualizzazione a griglia).

– OPPURE –

Fare clic sul pulsante *Single View*  o *Grid View*  sulla barra degli strumenti istogramma/dot-plot.

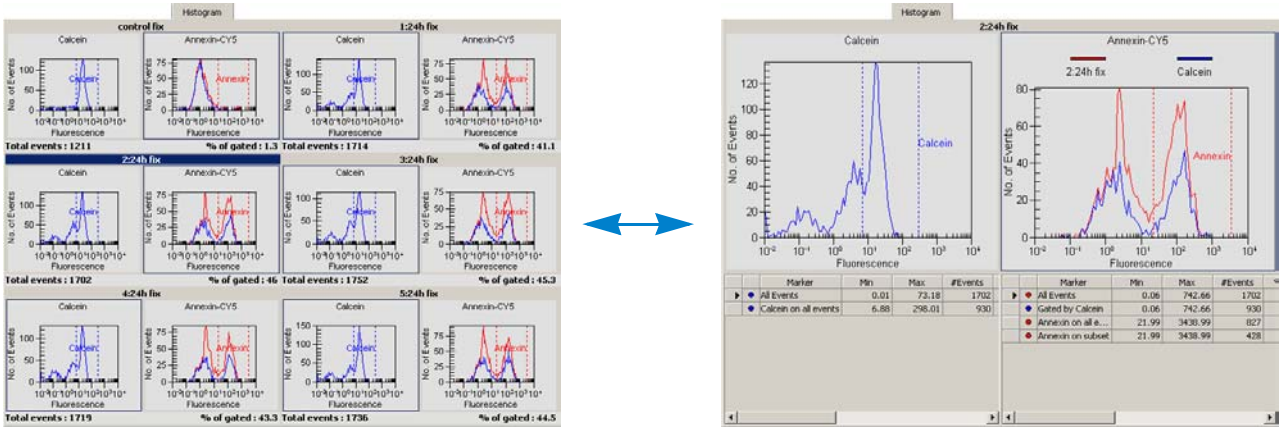
– OPPURE –

Fare clic sulla voce *All Samples* (Tutti i campioni) su *Pannello della struttura ad albero* per passare alla visualizzazione a griglia, oppure su un qualsiasi campione per passare alla visualizzazione singola.

– OPPURE –

Fare doppio clic su un qualsiasi istogramma o dot-plot della visualizzazione a griglia per passare alla visualizzazione singola.

L'esempio seguente mostra il passaggio tra visualizzazione a griglia e visualizzazione singola per gli istogrammi.



Come navigare tra i vari campioni

In qualsiasi momento - anche durante l'analisi di un chip - è possibile scorrere i campioni - sia in formato istogramma che in formato dot-plot.

Per navigare tra i campioni utilizzare *Pannello della struttura ad albero*:

1. Se non è visibile l'albero, selezionare *View* > *Tree View* (Visualizza > Visualizzazione albero).

   Il pannello della struttura ad albero viene visualizzato alla sinistra della scheda e mostra tutti i file con i dati dei chip ed i file di analisi come nodi.

2. Fare clic sul nome di un campione.

   L'istogramma o il dot-plot del campione vengono visualizzati in visualizzazione singola.

Per navigare tra i campioni utilizzare *Pannello inferiore*:

1. Se non è visibile il pannello inferiore *View* > *Tree View* (Visualizza > Visualizzazione albero).

   Il pannello inferiore viene visualizzato nell'angolo in basso a sinistra, mostrando l'icona di un chip.

2. Fare clic su un pozzetto dell'icona del chip.

Per sfogliare i campioni:

1. Dal menu *Histogram* (Istogramma) o *Dot Plot* selezionare *Next Sample* (Campione successivo) o *Previous Sample* (Campione precedente).

   – OPPURE –

   Fare clic sul pulsante *Next Sample*  (Campione successivo) o *Previous Sample*  (Campione precedente) sulla barra degli strumenti Histogram/Dot-plot (Istogramma/dot-plot).

Per passare dal formato istogramma a dot-plot e viceversa:

1. Fare clic sulla scheda *Histogram* (Istogramma) o *Dot Plot* per visualizzare i risultati del campione selezionato in formato istogramma o dot-plot.

Come modificare la visualizzazione degli istogrammi e dei dot-plot

In *Single view* (Visualizzazione singola) è possibile modificare la visualizzazione degli istogrammi e dei dot-plot.

Negli istogrammi e nei dot-plot è possibile:

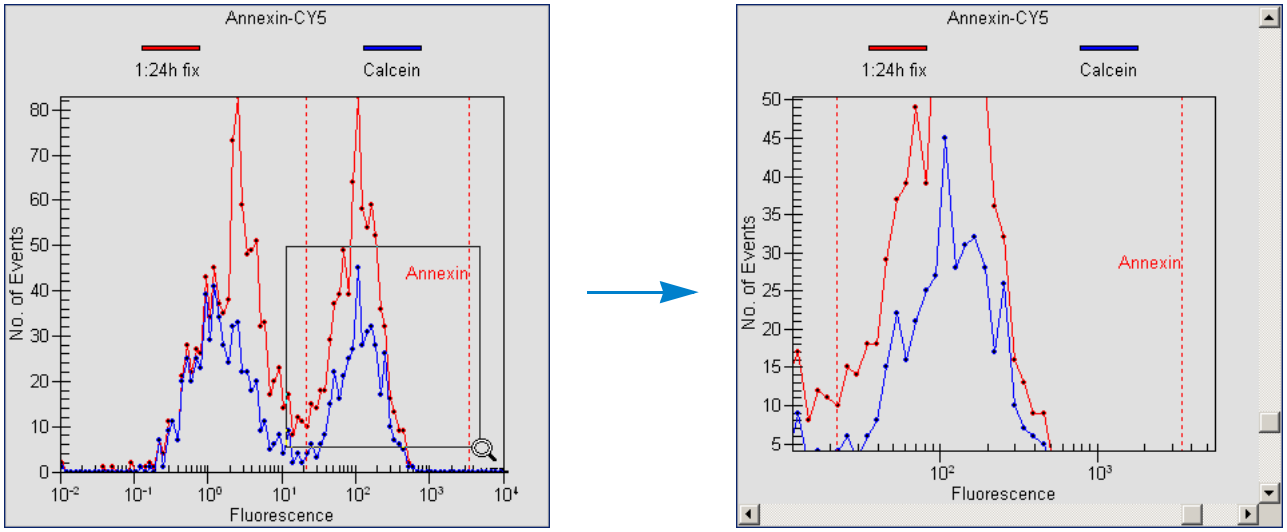
- Zoomare (ingrandire o ridurre utilizzando il mouse) i grafici, per esempio per visualizzare i dettagli.
- Mettere un gradiente di colore sullo sfondo dei grafici.

Inoltre negli istogrammi è possibile:

- Mostrare i punti di dati.

Per eseguire lo zoom di un istogramma o dot-plot:

1. Posizionare il puntatore del mouse sull'istogramma/dot plot.
2. Fare clic e tenere premuto il pulsante sinistro del mouse.
   Il puntatore del mouse cambia la sua forma in una lente d'ingrandimento  .
3. Trascinare il mouse.
   Un rettangolo mostra la parte dell'istogramma/dot plot che deve essere ingrandita.
4. Rilasciare il tasto del mouse.



È possibile eseguire diversi zoom in sequenza. Dopo aver eseguito lo zoom di un istogramma o dot-plot, i pulsanti *Undo Zoom* (Annulla zoom) e *Undo All* (Annulla tutto) risultano abilitati.

Per annullare uno step di esecuzione dello zoom:

1 Fare clic sul pulsante *Undo Zoom* (Annulla zoom) oppure fare doppio clic sull'istogramma o dot-plot.

Per annullare tutti gli step di esecuzione dello zoom:

1 Fare clic sul pulsante *Undo Zoom All* (Annulla zoom tutto).

Per visualizzare i punti dei dati negli istogrammi.

1 Nel menu *Histogram* (Istogramma), selezionare *Show Data Points* (Mostra punti dati).

Tutti gli eventi vengono visualizzati come punti.

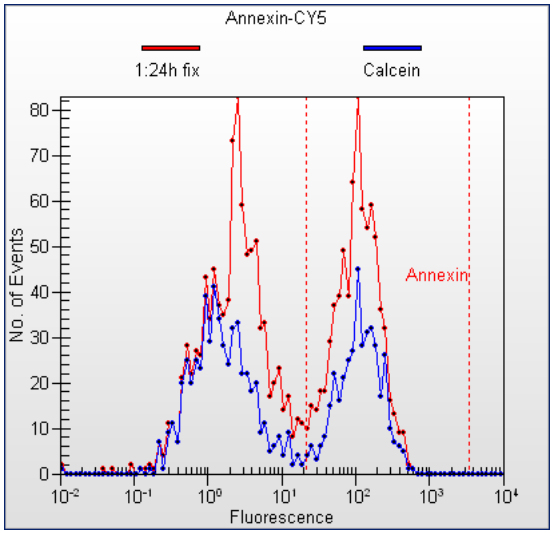
Per mettere un gradiente di colore sullo sfondo di un istogramma o dot-plot:

1 Dal menu *Histogram* (Istogramma) o *Dot Plot* selezionare *Gradient* (Gradiente).

– OPPURE –

Fare clic sul pulsante *Gradient* (Gradiente) sulla barra degli strumenti dell'istogramma o del dot plot.

Un gradiente di colore (da grigio a bianco) viene visualizzato sullo sfondo dei grafico.



Analisi e valutazione dei risultati di un'analisi citometrica a flusso

È possibile analizzare e valutare i dati dei risultati delle analisi citometriche a flusso utilizzando il formato dot-plot o il formato a istogramma. In entrambi i formati è possibile valutare le cellule rilevate definendo le aree d'interesse.

- *Histograms* (Istogrammi) mostra la distribuzione degli eventi correlata all'intensità della fluorescenza rossa e blu. Un apposito filtro viene utilizzato per generare sottoinsiemi basati sui marker di un istogramma. Vedere la sezione "Utilizzo degli istogrammi per la valutazione" a pagina 238 per informazioni dettagliate.
- *Dot plots* mostra gli eventi come punti in un sistema di coordinate dove i valori della fluorescenza blu vengono correlati a quelli della rossa. aree e settori vengono utilizzate per determinare il numero di cellule con un'intensità della fluorescenza che cade in un range definito. Vedere la sezione "Utilizzo dei dot-plot per la valutazione" a pagina 260 per informazioni dettagliate.

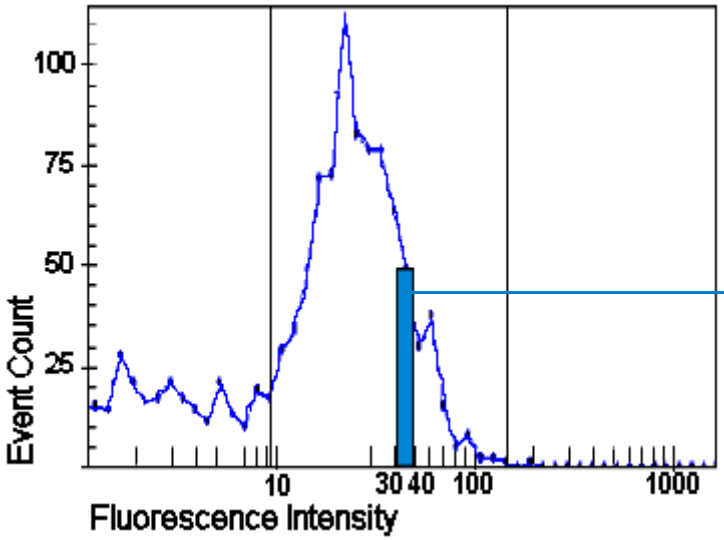
Quando si utilizzano le analisi predefinite, i marker e le aree vengono impostati approssimativamente dove è atteso l'evento. Vedere la sezione "Valutazione delle analisi di colorazione degli anticorpi, apoptosi e GFP" a pagina 271 per informazioni sulle modalità di valutazione delle analisi predefinite.

SUGGERIMENTO

I risultati possono essere analizzati e valutati mentre l'analisi di un chip è ancora in corso.

Utilizzo degli istogrammi per la valutazione

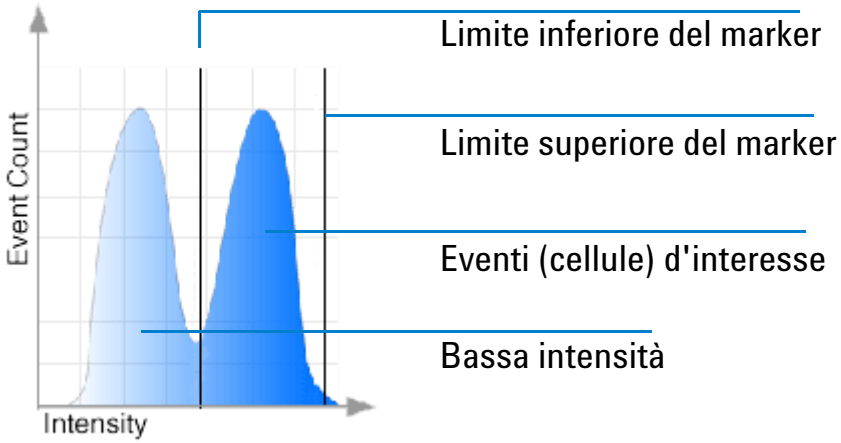
Gli istogrammi sono rappresentazioni grafiche dei risultati d'analisi, dove il numero degli eventi (cellule) viene mappato sull'asse Y ed il loro valore di fluorescenza sull'asse X. Le curve risultanti mostrano la distribuzione della frequenza degli eventi in relazione ai valori dell'intensità della loro fluorescenza, come mostrato nell'immagine seguente. Negli istogrammi reali la barra è ridotta ad un punto (punto dati).



Gli istogrammi possono essere valutati statisticamente con marker che consentono di definire i range dei valori d'intensità della fluorescenza. Un istogramma può essere utilizzato per rappresentare un intervallo di valori di fluorescenza per la definizione di un sottoinsieme di eventi. Solo le cellule che hanno un valore di fluorescenza che cade all'interno di questo intervallo vengono visualizzate nel secondo istogramma. Questo metodo è detto filtro.

Marker

I marker vengono utilizzati per definire un intervallo di valori d'intensità della fluorescenza in un istogramma. I limiti superiore ed inferiore dell'intervallo vengono visualizzati come linee verticali, come mostrato nell'immagine seguente:



I valori numerici di ogni marker definito vengono visualizzati in una riga separata sulla tabella dei risultati. Un marker viene utilizzato come un filtro per il secondo istogramma, per definire un sottoinsieme di eventi.

Nelle analisi predefinite, i marker vengono impostati in modo predefinito ed occorre solo regolare la loro posizione. Per definire le proprie analisi, selezionare l'analisi *Generic* (Generica) per l'acquisizione, dove è possibile definire i propri marker e/o aree assieme ai filtri.

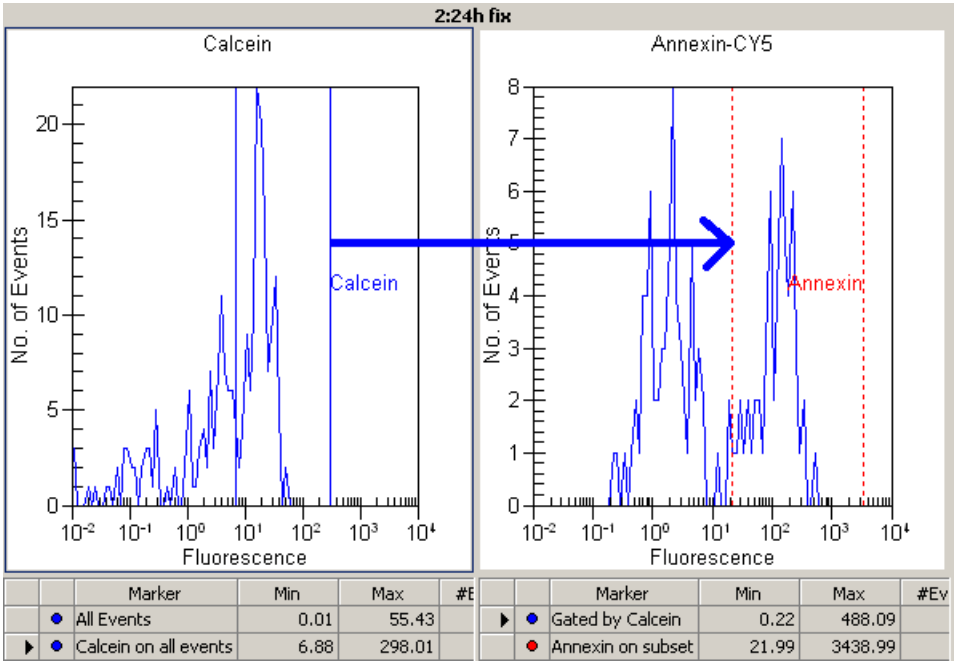
Quando si utilizzano diversi marker all'interno di un istogramma, solo uno di essi può essere utilizzato come filtro. Gli altri marker possono solo essere utilizzati per valutare le aree degli istogrammi che coprono. I valori che appartengono a questi marker vengono visualizzati anche sulla tabella dei risultati.

Filtro

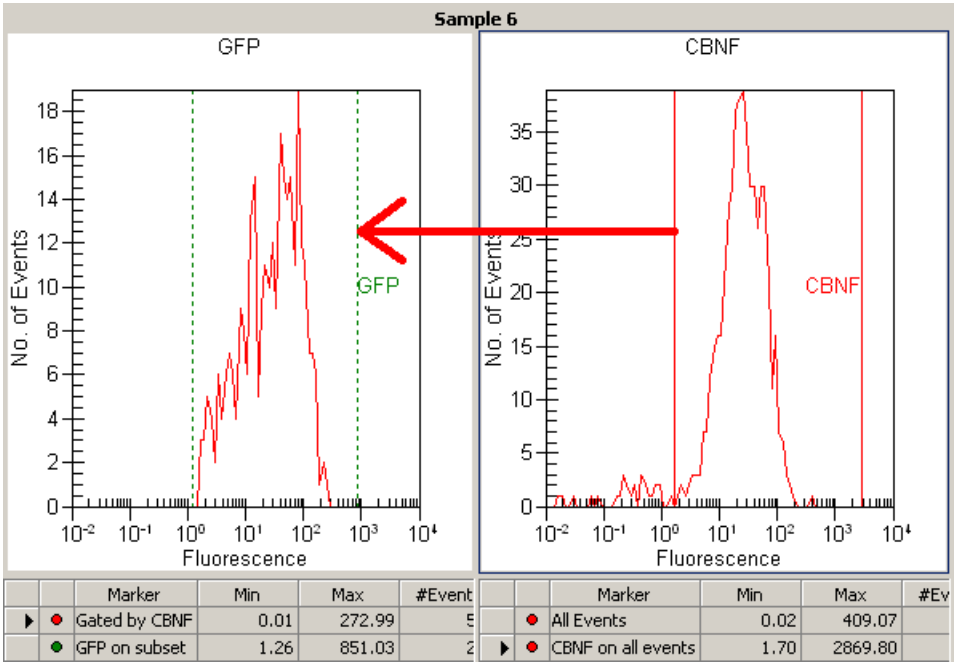
Il filtro viene utilizzato per restringere il numero di eventi che vengono valutati, filtrando gli eventi che non hanno i valori di fluorescenza impostati dal marker. Per esempio, filtrando un marker blu, è possibile escludere tutti gli eventi con basso valore di fluorescenza blu (consentendo, per esempio, di filtrare le cellule morte, il colorante non legato ed eventuali detriti). Vengono valutati solo gli eventi con livelli di fluorescenza blu entro l'intervallo del marker. Pertanto, è possibile escludere tutte le cellule morte e valutare solo le cellule viventi per un'altra proprietà.

La direzione del filtro definisce l'istogramma di riferimento:

- Il filtro *da blu a rosso* utilizza l'istogramma blu per definire il sottoinsieme tramite un marker (analisi tipo *Apoptosi* e *Colorazione anticorpi*).



- Il filtro *da rosso a blu* utilizza l'istogramma rosso per definire il sottoinsieme tramite un marker (analisi tipo *GFP*).

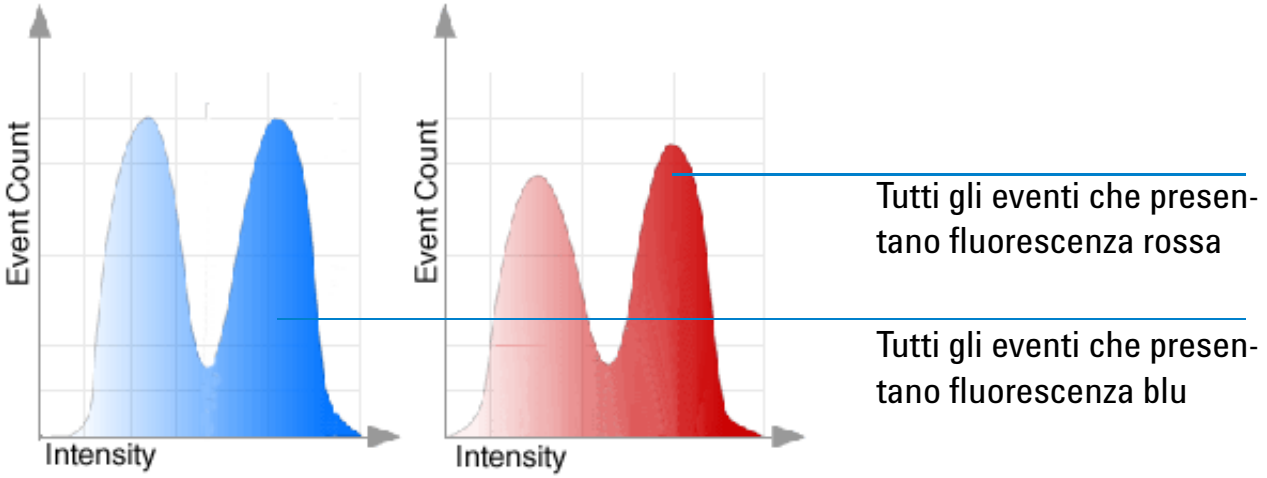


NOTA

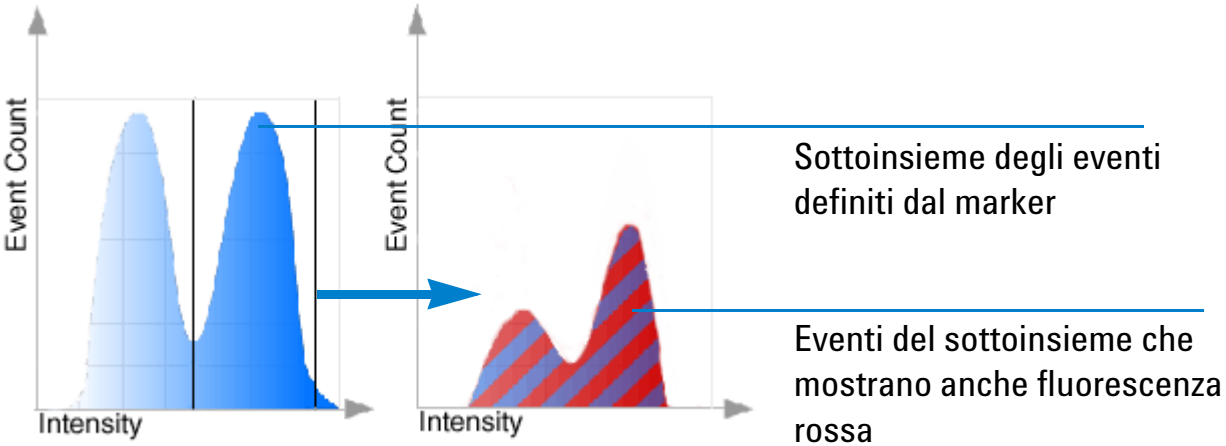
Le analisi predefinite hanno una direzione fissa del filtro, mentre le analisi di tipo *Generico* hanno una direzione variabile del filtro.

Le figure seguenti illustrano il filtro da blu a rosso.

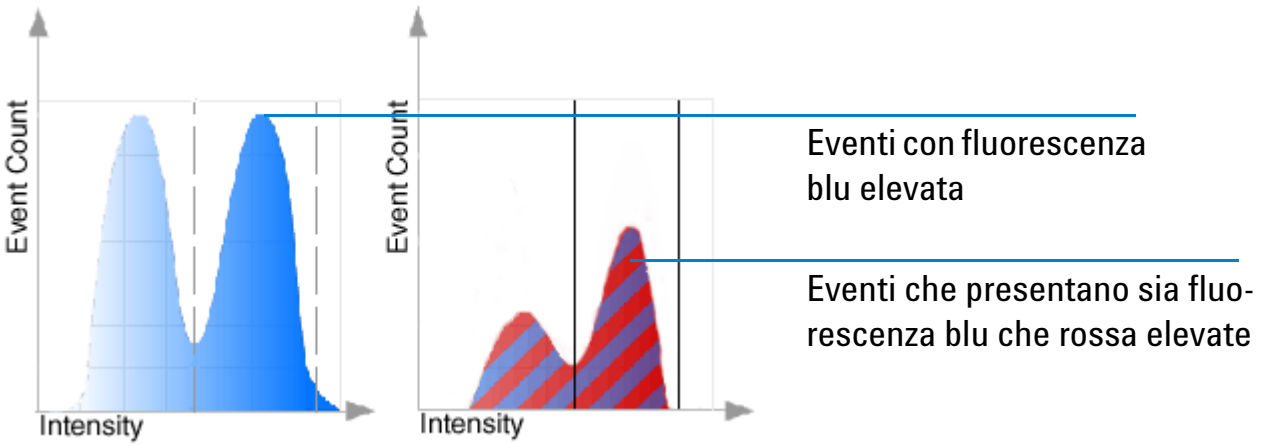
I due istogrammi mostrano tutti gli eventi misurati nell'istogramma blu e nell'istogramma rosso senza l'applicazione del filtro. In questo caso non è possibile vedere quali cellule risultano fluorescenti solo nel blu e quali sono fluorescenti solo nel rosso.



Impostando un marker sull'istogramma blu, è possibile definire l'intervallo di fluorescenza in cui devono essere comprese le cellule per essere considerata nell'istogramma rosso. In pratica si utilizza il filtro sull'istogramma blu per definire un sottoinsieme sull'istogramma rosso.



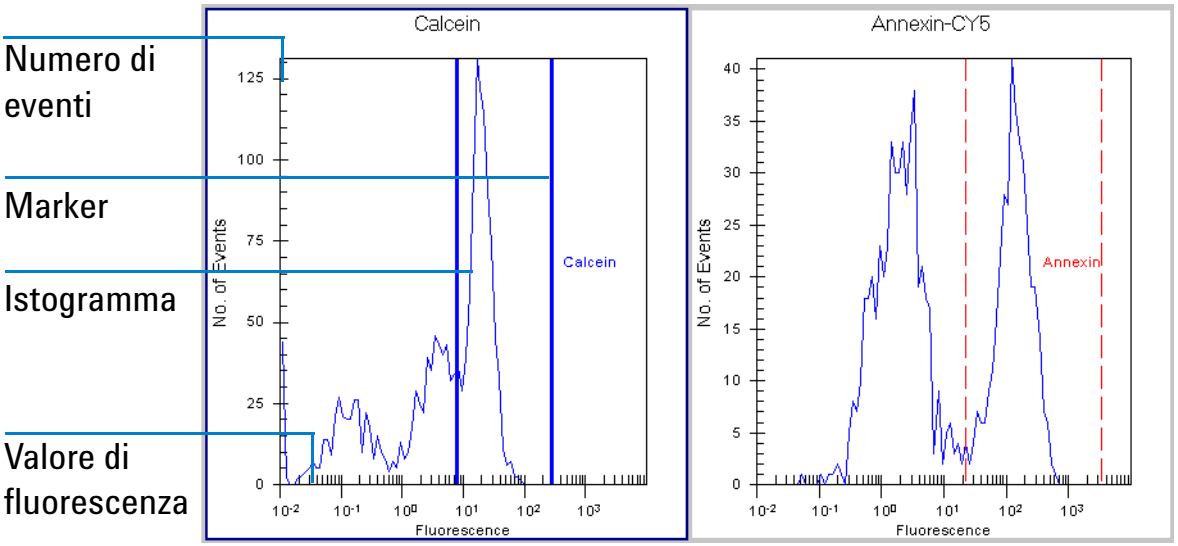
L'istogramma rosso visualizza ora solo le cellule con fluorescenza blu o rossa all'interno del marker. Per valutare questo sottoinsieme è possibile impostare un marker sull'istogramma rosso. Questo secondo marker esclude tutte le cellule la cui fluorescenza non è in questo intervallo.



La tabella dei risultati (vedere anche la sezione "Visualizzazione dei risultati della valutazione degli istogrammi" a pagina 257) dell'istogramma filtrato (in questo caso quello rosso) mostra i valori in formato numerico:

- Il valore *% of total* (% di totale) mostra il numero di eventi che hanno sia fluorescenza blu che rossa di valore elevato, rispetto al totale degli eventi misurati.
- Il valore *% of gated* (% di filtrati) mostra il numero di eventi che hanno fluorescenza blu e rossa di valore elevato, rispetto agli eventi blu (o rossi).

L'immagine seguente mostra due istogrammi con direzione del filtro da blu a rosso (da sinistra a destra) di un'analisi tipo apoptosi. L'istogramma blu mostra la fluorescenza della calceina, che indica la presenza di cellule vive o morte (un valore di fluorescenza elevato indica cellule vive). L'istogramma rosso mostra la sottopopolazione di cellule viventi con fluorescenza da annexin V indicante apoptosi (un valore elevato di fluorescenza indica che le cellule sono a apoptotiche). Come risultato si vede un sottoinsieme di cellule viventi apoptotiche.



Come inserire un marker in un istogramma

Un marker viene visualizzato con due linee verticali che definiscono un'area di valori di fluorescenza. Viene utilizzato per selezionare un sottoinsieme di eventi in accordo con quest'area di fluorescenza.

NOTA

I marker possono essere inseriti solo nell'analisi di tipo *Generico*.

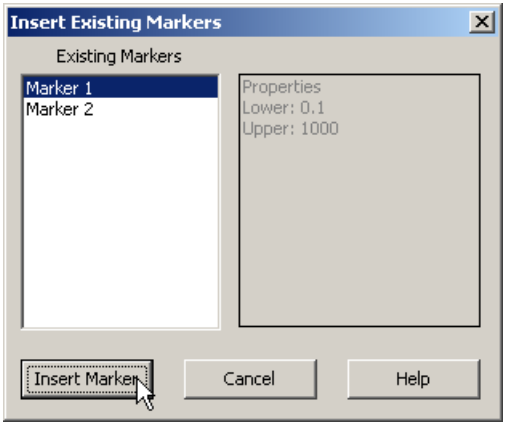
Per aggiungere un nuovo marker:

1 Sulla barra degli strumenti della scheda *Histogram* (Istogramma), fare clic sul pulsante *Insert Marker* (Inserisci marker).

Viene aggiunto un marker alla finestra dell'istogramma selezionato.

Per inserire un marker esistente:

1 Fare clic sul pulsante *Insert Existing Marker* (Inserisci marker esistente) per aprire la finestra *Insert Existing Markers* (Inserisci marker esistenti).



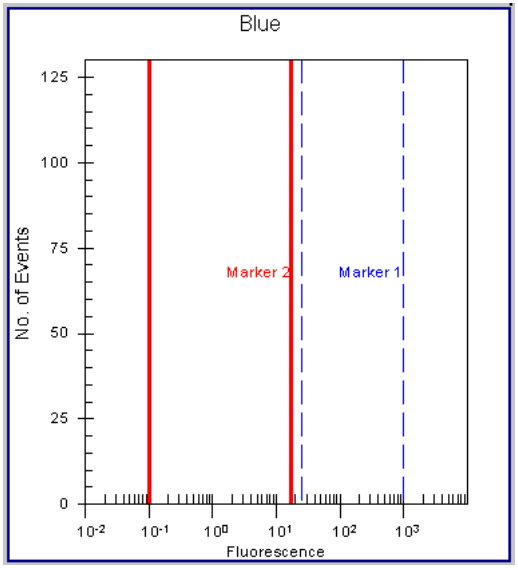
2 Selezionare un marker dalla lista e fare clic su *Insert Marker* (Inserisci marker).

Le linee del marker saranno inserite nella posizione definita. Un'etichetta identifica il marker.

I marker non più necessari possono essere rimossi:

1 Fare clic su una delle linee verticali dell'istogramma per selezionare il marker.

Le linee del marker selezionato vengono visualizzate in grassetto.



SUGGERIMENTO

Per selezionare il marker è possibile anche fare clic sulla riga corrispondente della tabella dei risultati.

2 Fare clic sul pulsante *Delete Marker* (Elimina marker) per rimuovere il marker.

Come configurare i marker

È possibile modificare colore, nome e limiti superiore ed inferiore del marker:

1 Fare doppio clic sul marker desiderato.

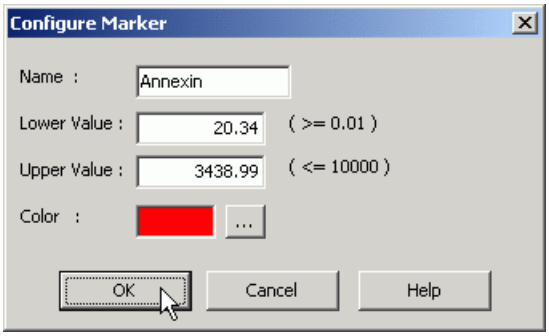
– OPPURE –

Fare clic con il pulsante destro del mouse sulla riga corrispondente della tabella dei risultati e selezionare *Configure Marker...* (Configura marker) sul menu del contesto.

– OPPURE –

Selezionare il marker e fare clic sul pulsante *Configure Marker* (Configura marker) sulla barra degli strumenti.

Viene visualizzata la finestra di dialogo *Configure Marker* (Configura marker).



2 Inserire un nome per il marker, per esempio il colorante utilizzato (si consiglia di utilizzare dei nomi per identificare i marker).

3 Inserire un *Lower Value* (Valore inferiore) (linea verticale a sinistra).

4 Inserire un *Upper Value* (Valore superiore) (linea verticale a destra).

NOTA

I valori inferiore e superiore devono essere compresi nell'intervallo 0,01 - 10.000 relativo alle unità fluorescenti.

---

5 Fare clic sul pulsante *Color* ... (Colore) per aprire la finestra di dialogo *Color* e selezionare un colore.

6 Fare clic su *OK*.

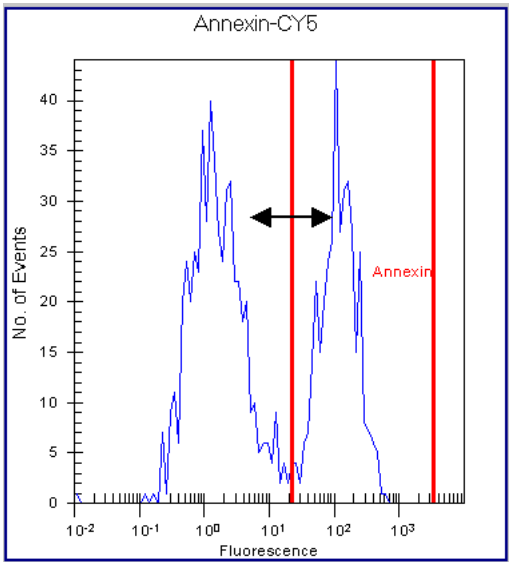
Come spostare i limiti inferiore e superiore dei marker

Entrambe le linee del marker possono essere spostate trascinandole con il mouse:

1 Posizionare il puntatore del mouse su una linea del marker.

Il puntatore del mouse cambia la sua forma e si trasforma in una mano.

2 Trascinare la linea nella posizione desiderata.



3 Rilasciare il tasto del mouse.

4 Ripetere la stessa operazione per l'altra linea del marker, se necessario.

NOTA

I limiti del marker possono essere modificati anche inserendo i valori di fluorescenza nella finestra di dialogo *Configure Marker* (Configura marker) (vedere la sezione "Come configurare i marker" a pagina 248).

Come copiare i marker in tutti gli istogrammi

Se definito, un marker può essere copiato negli istogrammi di tutti i campioni (solo analisi generica):

1 Selezionare il marker sull'istogramma o sulla tabella dei risultati.

Il pulsante *Insert the selected marker into all histograms*  (Inserisci il marker selezionato in tutti gli istogrammi) viene abilitato.

2 Fare clic su questo pulsante.

Viene visualizzata la finestra di dialogo *Copy Marker* (Copia marker). Questa finestra di dialogo richiede se si desidera utilizzare il marker come riferimento.

3 Fare clic su *Yes* (Si) per utilizzare questo marker come riferimento. Il marker sarà inserito in tutti gli altri istogrammi del canale blu o rosso. Quando le proprietà di questo marker vengono modificate, le modifiche vengono applicate a tutti i campioni.

– OPPURE –

Fare clic su *No.* Il marker sarà inserito in tutti gli altri istogrammi del canale blu o rosso. Quando le proprietà di questo marker vengono modificate, le modifiche vengono applicate solo al campione attuale.

Come impostare la direzione del filtro (solo analisi generica)

È possibile utilizzare *un* marker per definire la direzione del filtro. In altre parole, si definisce se utilizzare la fluorescenza blu o rossa come filtro per definire un sottoinsieme sugli altri istogrammi. Questo dipende anche dal colorante utilizzato.

È possibile impostare entrambe le direzioni per il filtro:

Per impostare la direzione del filtro:

1 Selezionare il marker nell'istogramma rosso o blu che si vuole utilizzare come filtro per gli altri istogrammi.

Il pulsante del filtro corrispondente sulla barra degli strumenti è ora abilitato.

2 Fare clic su  o su  per impostare la direzione del filtro.

– OPPURE –

Fare clic con il pulsante destro del mouse sull'istogramma o sulla tabella dei risultati e selezionare *Gate in Red/Blue histogram* (Filtro sull'istogramma rosso/blu) sul menu del contesto.

La direzione del filtro viene visualizzata sulla *Barra delle informazioni*.

Se la direzione del filtro è già impostata, occorre prima rimuovere il filtro esistente.

Per rimuovere il filtro:

1 Fare clic sul pulsante *Remove Gate*  (Rimuovi filtro).

Il filtro viene rimosso ed il pulsante della direzione corrispondente viene abilitato.

NOTA

Per modificare la direzione del filtro in analisi non generiche, occorre prima passare all'analisi generica. Per ottenere questo, utilizzare il pulsante *Import Setpoints...* (Importa impostazioni) sulla scheda *Assay Properties* (Proprietà analisi) (vedere la sezione "Importazione dei dati" a pagina 304).

Come sovrapporre gli istogrammi

È possibile confrontare i campioni sovrapponendo i loro istogrammi filtrati. Questo è utile per esempio, quando si desidera vedere l'avanzamento di una reazione oppure se un campione viene utilizzato come riferimento.

La sovrapposizione degli istogrammi potrebbe essere utile anche per regolare la posizione dei marker. Tutti i campioni analizzati possono essere sovrapposti. Sia gli istogrammi blu che quelli rossi vengono sovrapposti.

NOTA

È possibile configurare i colori degli istogrammi sovrapposti e regolare la graduazione della scala come descritto in "Come impostare i colori degli istogrammi sovrapposti" a pagina 256.

Per sovrapporre gli istogrammi:

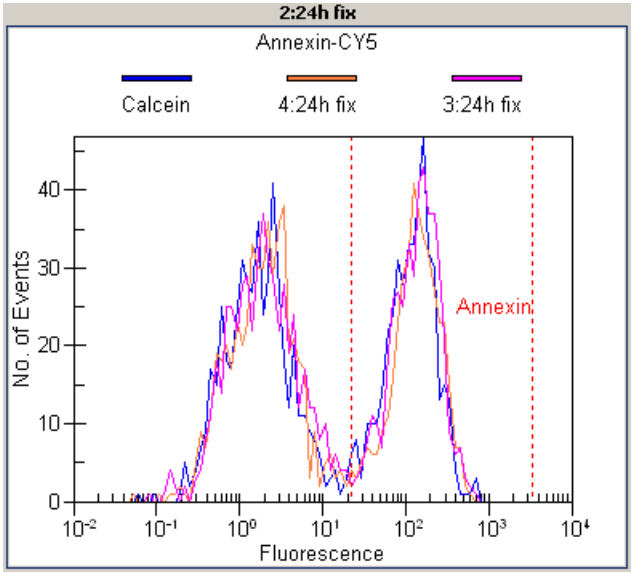
1. Selezionare il campione principale e visualizzare la scheda *Histogram* (Istogramma).
2. Fare clic sul pulsante *Overlaid Samples* 

(Campioni sovrapposti) per aprire un elenco a tendina.

3 Fare clic sul campione che si vuole sovrapporre.

La curva dell'istogramma del campione selezionato viene visualizzata in Histogram View (Visualizzazione istrogramma), la voce corrispondente dell'elenco a tendina viene evidenziata con un segno di spunta e sopra il grafico viene visualizzata una legenda dei colori.

4 Ripetere le operazioni descritte ai punti 2 e 3 per sovrapporre ulteriori istogrammi.



Per sovrapporre tutti i campioni:

1 Fare clic sul pulsante *Overlaid Samples* Overlaid Samples (Campioni sovrapposti) per aprire un elenco a tendina.

2 Selezionare *All Samples* (Tutti i campioni) per sovrapporre gli istogrammi di tutti i campioni.

Per annullare la sovrapposizione degli istogrammi:

1. Selezionare il campione che contiene gli istogrammi sovrapposti.
2. Fare clic sul pulsante *Overlaid Samples* 

(Campioni sovrapposti) per aprire un elenco a tendina.
3. Fare clic sul campione che si vuole rimuovere.

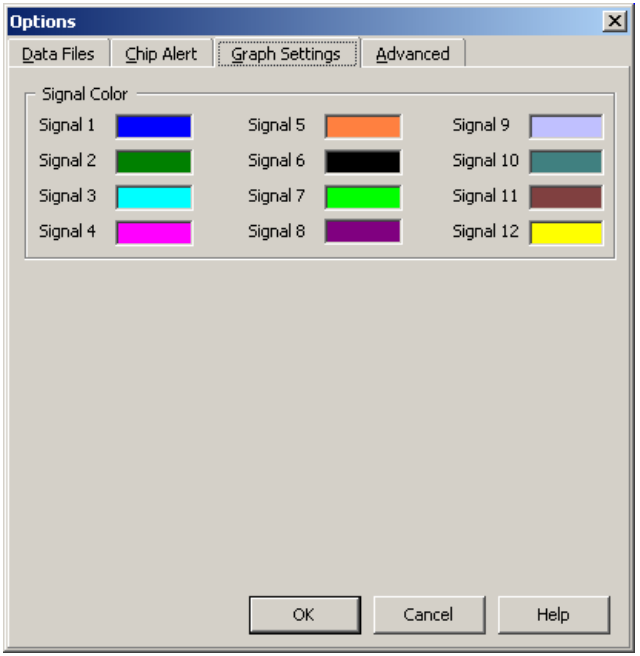
   – OPPURE –

   Fare clic su *No Overlay* (Nessuna sovrapposizione) per rimuovere tutti gli istogrammi sovrapposti.

Come impostare i colori degli istogrammi sovrapposti

È possibile utilizzare la scheda *Graph Settings* (Impostazioni grafiche) nella finestra di dialogo *Options* (Opzioni) per configurare i colori dei segnali (colori delle curve negli istogrammi):

1. Selezionare *Tools* > *Options* (Strumenti > Opzioni).
2. Fare clic sulla scheda *Graph Settings* (Impostazioni grafiche) per portarla in primo piano.



Per configurare il colore del segnale:

1. Fare clic sul quadratino colorato corrispondente al segnale.

   Viene visualizzata la finestra di dialogo *Color* (Colore).
2. Selezionare un colore per il segnale ed assegnarlo facendo clic su *OK*.

Visualizzazione dei risultati della valutazione degli istogrammi

I risultati calcolati vengono visualizzati sulla tabella dei risultati, una tabella sotto ogni istogramma. Sulla tabella dei risultati vengono riportati i marker, i filtri, alcuni valori statistici ed i valori percentuali degli eventi.

		Marker	Min	Max	#Events	%Total	% of gated	Mean	StdDev	CV%	GMean
▶	●	All Events	0.02	51.42	1606	100	-	8.07	7.13	88.37	4.51
	●	Gated by Calcein	0.04	51.42	1418	88.30	-	8.46	7.32	86.47	4.72
	●	CD3-APC on all events	1.18	4085.88	1356	84.40	-	9.48	6.89	72.75	7.27
	●	CD3-APC on subset	1.18	4085.88	1195	74.40	84.30	9.96	7.02	70.44	7.73

Ogni marker inserito nell'istogramma ha la sua riga corrispondente. Si ricorda che è possibile utilizzare solo un marker per ogni filtro. I marker aggiuntivi possono essere utilizzati per valutare statisticamente parti diverse dell'istogramma.

Se l'opzione *Hide superset curve...* (Nascondi curva sovraimposta) è disabilitata sul navigatore delle impostazioni (vedere la sezione "Scheda Assay Properties (Proprietà d'analisi)" a pagina 487), vengono visualizzate due righe aggiuntive sulla tabella dei risultati dell'istogramma filtrato. La curva sovraimposta mostra un istogramma di tutti gli eventi misurati; il filtro non viene considerato.

La tabella dei dati può essere esportata per ulteriori valutazioni in altre applicazioni. Vedere la sezione "Esportazione dei dati" a pagina 311.

NOTA

L'aspetto grafico della tabella dei risultati può essere configurato (vedere la sezione "Configurazioni tabelle" a pagina 330). Pertanto, non tutti i valori sotto elencati potrebbero essere visibili.

Il contenuto della tabella dei risultati dipende dalla direzione del filtro. L'istogramma che viene utilizzato per il filtro può visualizzare i seguenti risultati.

Marker	Tutti gli eventi - Questa riga mostra i dati di tutti gli eventi misurati, per esempio tutte le cellule viventi e morte. Le righe seguenti mostrano i dati del sottoinsieme di cellule definito dai marker inseriti. Quando si utilizza un'analisi predefinita, la voce potrebbe essere per esempio "Calceina per tutti gli eventi".
Min	Valore minimo di fluorescenza del marker corrispondente.
Max	Valore massimo di fluorescenza del marker corrispondente.
Events (Eventi)	Numero di eventi coperti dal marker. Per l'istogramma utilizzato per il filtro, il numero di tutti gli eventi rilevati viene visualizzato sulla riga "All Events" (Tutti gli eventi)
% total (% totale)	% di eventi selezionati in rapporto al numero totale di eventi. La riga “All Events” (Tutti gli eventi) riporta 100%.
% of gated (% di filtrati)	% di eventi coperti dal marker nell'istogramma filtrato. Nessun valore per l'istogramma del filtro.
Mean (Media)	Valore medio di fluorescenza di tutti gli eventi all'interno del marker.
StdDev	Deviazione standard dal valore medio.
%CV	Coefficiente di variazione.
GMean	Media geometrica.

L'istogramma che visualizza i dati filtrati può mostrare i seguenti dati:

Marker	Tutti gli eventi - questa riga mostra i dati di tutti gli eventi coperti dal marker inserito. Le righe seguenti mostrano i dati di tutti gli eventi coperti dal marker inserito. Quando si utilizza un'analisi predefinita, la voce potrebbe essere per esempio "Annexin V su sottoinsieme".
Min	Valore minimo di fluorescenza del marker corrispondente.
Max	Valore massimo di fluorescenza del marker corrispondente.
Events (Eventi)	Numero di eventi coperti dal marker. Per l'istogramma utilizzato per il filtro, il numero di tutti gli eventi rilevati viene visualizzato sulla riga "All Events" (Tutti gli eventi).
% total (% totale)	% di eventi selezionati in rapporto al numero totale di eventi. Il marker utilizzato per il filtro riporta 100%, la tabella dell'istogramma filtrato mostra il valore del sottoinsieme.
% of gated (% di filtrati)	% di eventi filtrati rispetto al numero totale degli eventi. Si tratta degli eventi che hanno passato il filtro e sono coperti dal marker dell'istogramma, per esempio da annexin V.
Mean (Media)	Valore medio di fluorescenza degli eventi all'interno del marker.
StdDev	Deviazione standard dal valore medio.
%CV	Coefficiente di variazione.
GMean	Media geometrica.

Utilizzo dei dot-plot per la valutazione

Sulla scheda *Dot plot*, le cellule sono visualizzate come punti, dove l'intensità della loro fluorescenza rossa è riportata sull'asse Y e l'intensità della loro fluorescenza blu è riportata sull'asse X.

NOTA

Nell'area inferiore sinistra dell'area del dot-plot gli eventi possono non essere presenti a causa della presenza della soglia di rilevazione degli eventi. I punti vengono visualizzati solo se l'intensità della loro fluorescenza supera il limite minimo. I limiti sono specificati nel metodo di analisi - separatamente per la fluorescenza rossa e blu.

Per valutare i dot-plot è possibile delimitare delle *aree*. Le aree sono rettangoli le cui dimensioni e posizioni possono essere modificate fino a comprendere uno specifico sottoinsieme di eventi. Come risultato si avrà il numero di cellule compreso in un'area rispetto al numero totale di cellule.

NOTA

Solo nel tipo di analisi *Generico* è possibile aggiungere/rimuovere aree e filtri.

Inoltre, è possibile inserire un filtro orizzontale o verticale per *un'* area. Questo è utile per il conteggio di tutte le cellule con intensità di fluorescenza comprese tra i bordi orizzontali o verticali dell'area. Nelle analisi predefinite, il lato verticale di un'area corrisponde al marker dell'istogramma blu, il lato orizzontale a quello dell'istogramma rosso (vedere la sezione "Utilizzo degli istogrammi per la valutazione" a pagina 238). Il filtro viene sempre visualizzato e corrisponde all'intervallo del marker che viene utilizzato per il filtro. Quando si sposta un marker di un istogramma, l'area ed il filtro vengono aggiornati automaticamente. Quando si modificano un'area o un filtro, anche il marker viene aggiornato. I dati statistici vengono visualizzati nella tabella dei risultati posta sotto il dot-plot.

Come aggiungere aree ai dot-plot (solo analisi generica)

Nei dot-plot delle analisi generiche è possibile disegnare delle aree. Quando sono presenti aree già definite in altri campioni, è possibile copiare queste aree nel dot-plot del campione corrente.

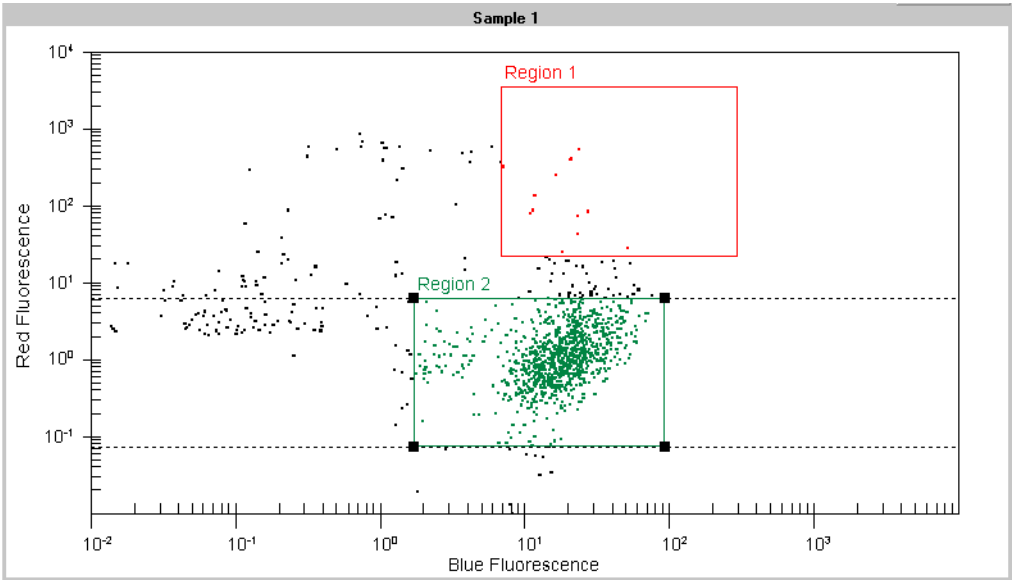
Per disegnare una nuova area:

1. Fare clic sul pulsante *Insert Region* (Inserisci area) sulla barra degli strumenti.

   Il puntatore del mouse diventa un puntatore a croce.

2. Disegnare un rettangolo sul dot-plot.

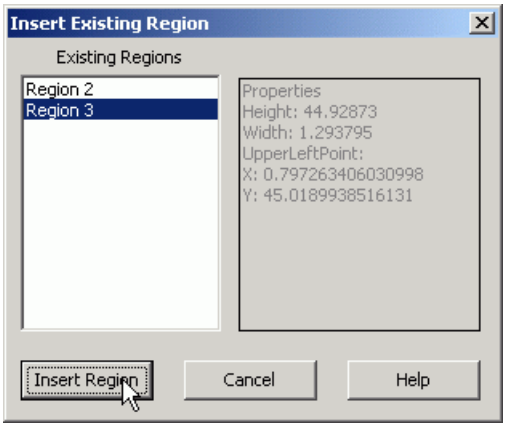
Le nuove aree vengono denominate automaticamente "Region x" (Area x), dove x è un numero ad incremento automatico. Per definizione i bordi della nuova area sono neri. Per facilitare la differenziazione delle aree, il colore del bordo può essere modificato (vedere la sezione “Come configurare le aree” a pagina 264).



Per inserire un'area esistente:

1 Selezionare il campione in cui si vuole inserire un'area esistente di un altro campione, quindi fare clic su *Insert existing region* (Inserisci area esistente).

   Viene visualizzata la finestra di dialogo *Insert Region* (Inserisci area).



2 Selezionare l'area che si desidera inserire e fare clic su *Insert Region* (Inserisci area).

L'area viene inserita nella sua posizione predefinita.

Per rimuovere un'area:

1 Fare clic sul bordo per selezionare l'area che si desidera rimuovere.

   L'area selezionata viene evidenziata ed il pulsante *Delete Regions* (Elimina aree) viene abilitato.

2 Fare clic su questo pulsante.

L'area viene rimossa dal dot-plot.

Come configurare le aree

È possibile cambiare il colore dei bordi dell'area, modificarne il nome e definirne la posizione e le dimensioni.

Per configurare un'area:

1 Fare clic sul bordo per selezionare l'area che si desidera configurare.

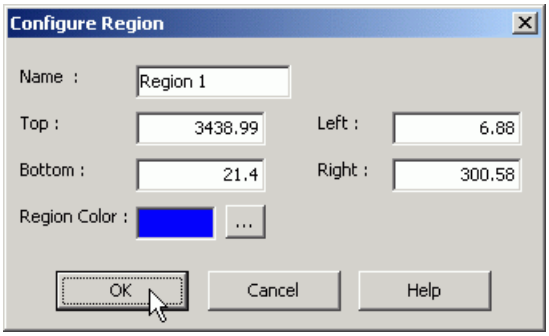
– OPPURE –

Fare clic con il pulsante destro del mouse sulla riga corrispondente della tabella dei risultati e selezionare *Configure Region...* (Configura area) sul menu del contesto.

– OPPURE –

Fare clic sul bordo dell'area per selezionarla, quindi fare clic sul pulsante *Configure Region* (Configura area) sulla barra degli strumenti.

Viene visualizzata la finestra di dialogo *Configure Region* (Configura area).



2 Inserire un *Name* (Nome) per l'area.

Si consiglia di utilizzare un nome di facile comprensione.

3 Inserire i valori di fluorescenza relativi al lato sinistro, destro, inferiore e superiore del rettangolo per definire la posizione e le dimensioni dell'area.

   Questi valori corrispondono ai limiti superiore ed inferiore del marker degli istogrammi blu e rosso.

4 Fare clic sul pulsante ... posto accanto al quadratino colorato per aprire la finestra di dialogo *Color* (Colore) e selezionare un colore per il bordo dell'area.

5 Fare clic su *OK*.

Per colorare i punti presenti nelle aree:

1 Fare clic sul pulsante *Color Dots*  (Colora i punti) sulla barra degli strumenti.

Tutti i punti all'interno di un'area avranno ora lo stesso colore del bordo dell'area stessa. Nel caso in cui le aree si sovrappongano, i punti vengono colorati con il colore dell'area aggiunta, riposizionata o ridimensionata per ultima.

Come modificare la posizione e le dimensioni di un'area.

Le dimensioni e la posizione delle aree possono essere modificate per restringere il numero degli eventi inclusi. È possibile operare graficamente con il mouse oppure inserire i valori nella finestra di dialogo *Configure Region* (Configura area).

Per spostare un'area:

1 Tenendo premuto il tasto MAIUSC, fare clic sul bordo dell'area e trascinare l'area nella nuova posizione.

2 Rilasciare il tasto del mouse.

Per modificare le dimensioni e la posizione con il mouse:

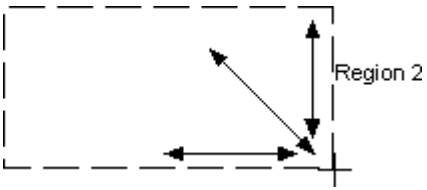
1 Fare clic sul bordo per selezionare l'area.

2 Posizionare il puntatore del mouse su un angolo qualsiasi dell'area selezionata.

Il puntatore del mouse cambia la sua forma in una doppia freccia.

3 Fare clic e trascinare il bordo fino ad ottenere la nuova dimensione.

Durante lo spostamento il puntatore del mouse diventa un puntatore a croce ed i bordi dell'area sono delimitati da una linea tratteggiata.



4 Rilasciare il tasto del mouse.

Per modificare le dimensioni e la posizione numericamente:

1 Fare doppio clic sull'area per aprire la finestra di dialogo *Configure Region* (Configura area).

2 Inserire i valori di fluorescenza relativi al lato sinistro, destro, inferiore e superiore del rettangolo per definire la posizione e le dimensioni dell'area.

   Questi valori corrispondono ai limiti superiore ed inferiore del marker degli istogrammi blu e rosso.

3 Fare clic su *OK*.

Come inserire un'area in tutti i dot-plot

Se un'area è stata definita per un campione, è possibile copiarla negli altri campioni dell'analisi.

Per inserire un'area in tutti i dot-plot:

1 Fare clic col pulsante sinistro del mouse sul bordo per selezionare l'area che si desidera utilizzare come origine.

   Il pulsante *Insert region into all dot plots*  (Inserisci area in tutti i dot-plot) viene abilitato.

2 Fare clic su questo pulsante.

   Viene visualizzata la finestra di dialogo *Copy Region* (Copia area), che richiede se si desidera utilizzare l'area origine come riferimento. L'area sarà inserita nei dot-plot di tutti gli altri campioni. Quando si modificano le proprietà di un'area, anche tutte le copie dell'area saranno modificate.

3 Fare clic su *Yes* (Si) per definire l'area d'origine come riferimento.

– OPPURE –

Fare clic su *No* per creare nuove aree che non sono "connesse". L'area sarà inserita nei dot-plot di tutti gli altri campioni. Quando le proprietà dell'area vengono modificate, le modifiche vengono applicate solo al campione selezionato.

L'area viene copiata in tutti i campioni dell'analisi.

Come lavorare coi filtri nei dot-plot

I filtri possono essere inseriti solo nell'analisi di tipo *generico*. Nelle analisi di tipo predefinito, il filtro è già definito.

Prima di poter inserire un filtro, occorre definire un'area (vedere la sezione "Come aggiungere aree ai dot-plot (solo analisi generica)" a pagina 261). Se un filtro è già impostato, occorre prima rimuovere il filtro esistente.

Per aggiungere un filtro in un'area:

1 Fare clic con il pulsante sinistro per selezionare l'area che si desidera aggiungere al filtro.

I pulsanti del filtro sulla barra degli strumenti sono ora abilitati.

2 Fare clic sul pulsante *Horizontal Gate* 

(Filtro orizzontale) o sul pulsante *Vertical Gate* 

(Filtro verticale) per impostare un filtro lungo il bordo orizzontale o verticale dell'area selezionata.

Sulla tabella dei risultati viene visualizzato un valore nella colonna *% of gated* (% di filtrati).

Se la direzione del filtro è già impostata, occorre prima rimuovere il filtro esistente:

1 Fare clic con il pulsante sinistro sul bordo dell'area per selezionarla.
   Se è già presente un filtro, il pulsante *Remove Gate*  (Rimuovi filtro) risulta abilitato

2 Fare clic su questo pulsante.

Il filtro viene rimosso ed i pulsanti del filtro vengono abilitati.

Visualizzazione dei risultati delle aree

I risultati delle misurazioni ed i relativi calcoli per le aree vengono visualizzati sulla tabella dei risultati posta sotto il dot-plot. Nelle analisi predefinite, è disponibile solo un'area, mentre per le analisi generiche, i dot plot possono avere tutte le aree che si desidera.

Vengono visualizzati i seguenti valori:

Region (Zona)	La prima zona (*All Events* (Tutti gli eventi)), visualizza sempre i valori degli eventi rilevati. Per ogni ulteriore zona (vedere la sezione "Come aggiungere aree ai dot-plot (solo analisi generica)" a pagina 261), viene aggiunta una riga alla tabella.
XMean (XMedio)	Valore medio della fluorescenza in direzione x.
YMean (YMedio)	Valore medio della fluorescenza in direzione y.
#Events (N° eventi)	Numero di eventi per ogni regione inserita nel dot-plot.
% total (% totale)	Percentuale di eventi per ogni regione inserita nel dot-plot.
% of gated (% di filtrati)	% di eventi filtrati rispetto al numero totale degli eventi.
StdDevX	Deviazione standard dal valore medio di fluorescenza in direzione x.
StdDevY	Deviazione standard dal valore medio di fluorescenza in direzione y.
CV%X	Coefficiente di variazione dei valori x.
CV%Y	Coefficiente di variazione dei valori y.
X GMean	Media geometrica del valore x.
Y GMean	Media geometrica del valore y.

Valutazione delle analisi di colorazione degli anticorpi, apoptosi e GFP

Con il software 2100 expert , vengono forniti diversi tipi predefiniti di analisi. Ogni tipo di analisi deve essere utilizzato esclusivamente per l'esperimento specifico per cui è stato sviluppato. Per esempio, si deve utilizzare il colorante rosso per la rivelazione di apoptosi (per esempio calceina e Cy5):

- "Valutazione dell'analisi di colorazione degli anticorpi" a pagina 272.
- "Valutazione analisi apoptosi" a pagina 278.
- "Valutazione analisi GFP" a pagina 284.

Valutazione dell'analisi di colorazione degli anticorpi

La colorazione degli anticorpi consente di misurare l'espressione di proteine sulla superficie o all'interno delle cellule mediante l'impiego di anticorpi specifici. L'anticorpo primario stesso può essere coniugato con un colorante oppure si può utilizzare un anticorpo secondario marcato che riconosca l'anticorpo primario. Quando si misura la fluorescenza delle cellule, è possibile determinare il numero di cellule a cui si è attaccato l'anticorpo.

Normalmente, per valutare la presenza degli anticorpi, si utilizza un colorante rosso come ad esempio APC (Alloficocianina) o Cy5.

Per stabilire se le cellule sono vive o morte, si può utilizzare un colorante blu come la calceina oppure come il SYTO 16 che colora gli acidi nucleici di tutte le cellule. Per informazioni dettagliate fare riferimento alla nota applicativa *Detecting Cell Surface and Intracellular Proteins with the Agilent 2100 Bioanalyzer by Antibody Staining* (Rivelazione delle proteine sulla superficie ed all'interno delle cellule con Bioanalyzer 2100 tramite colorazione degli anticorpi).

Per una descrizione dettagliata delle modalità di valutazione dei risultati utilizzando i marker e le aree vedere la sezione “Utilizzo degli istogrammi per la valutazione” a pagina 238, e “Utilizzo dei dot-plot per la valutazione” a pagina 260.

Direzione del filtro

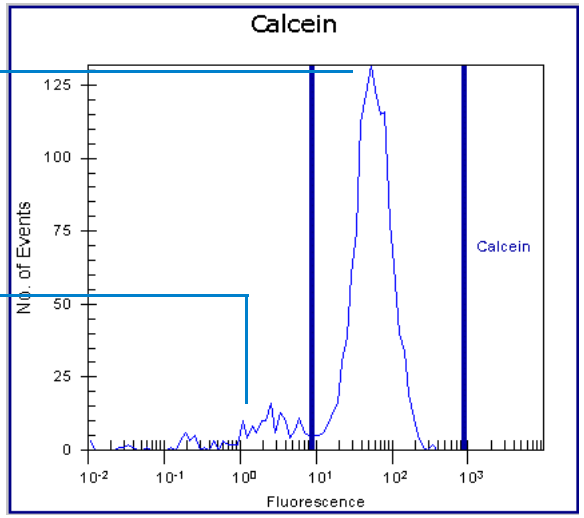
La direzione del filtro va dalla fluorescenza blu alla fluorescenza rossa. In base al colorante utilizzato, è possibile utilizzare tutte le cellule (colorazione degli acidi nucleici) o solo le cellule viventi (coloranti calceina per cellule viventi) per il filtro.

Valutazione dell'istogramma

Per il filtro viene utilizzato l'istogramma blu. Fluorescenza elevata nell'istogramma blu significa che le cellule sono viventi (se viene utilizzato un colorante indicatore di vita). Un basso livello di fluorescenza indica che le cellule sono morte. Quando si utilizza un colorante per acidi nucleici, non è possibile distinguere tra le cellule vive e quelle morte, è possibile solo contare tutte le cellule analizzate. Come esempio vedere l'immagine seguente:

Valori di fluorescenza elevati indicano cellule viventi

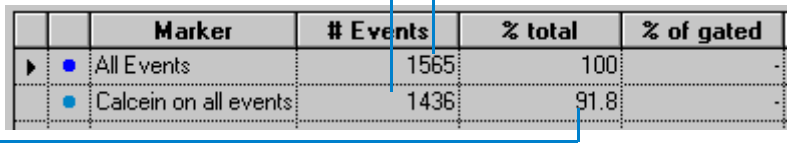
Valori di fluore-scenza bassi indi-cano cellule morte o



I valori vengono visualizzati nella tabella dei risultati sotto l'istogramma blu:

Tutti gli eventi misurati

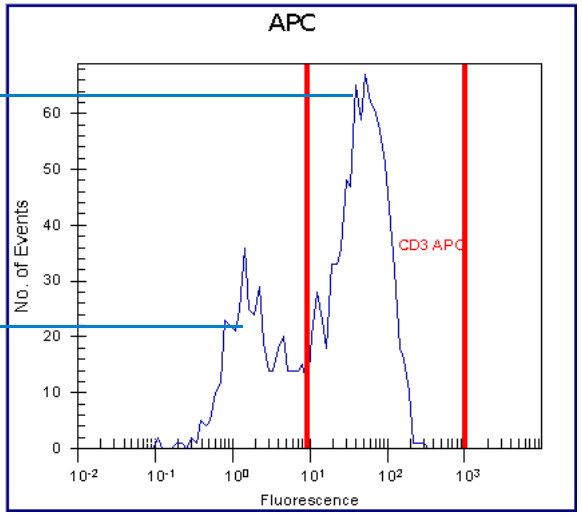
Tutti gli eventi rispetto al marker blu (in questo caso calceina)



	Marker	# Events	% total	% of gated
▶	All Events	1565	100	-
	Calcein on all events	1436	91.8	-

Cellule viventi rispetto a tutte le cellule analizzate (elevata fluorescenza della calceina)

Quando si utilizza il marker della calceina nell'istogramma blu per il filtro, vengono prese in considerazione solo le cellule viventi per costruire l'istogramma del colorante rosso. Valori elevati di fluorescenza rossa indicano cellule viventi con anticorpi legati, valori bassi di fluorescenza rossa indicano cellule viventi senza anticorpi legati. Vedere l'esempio seguente.



Valori elevati di fluorescenza indicano legame ad anticorpi marcati

Valori bassi di fluorescenza indicano la presenza di pochi legami con anticorpi marcati

I valori vengono visualizzati nella tabella dei risultati sotto l'istogramma rosso:

Percentuale di cellule viventi

Percentuale di tutte le cellule con valore elevato di fluorescenza rossa selezionate dal

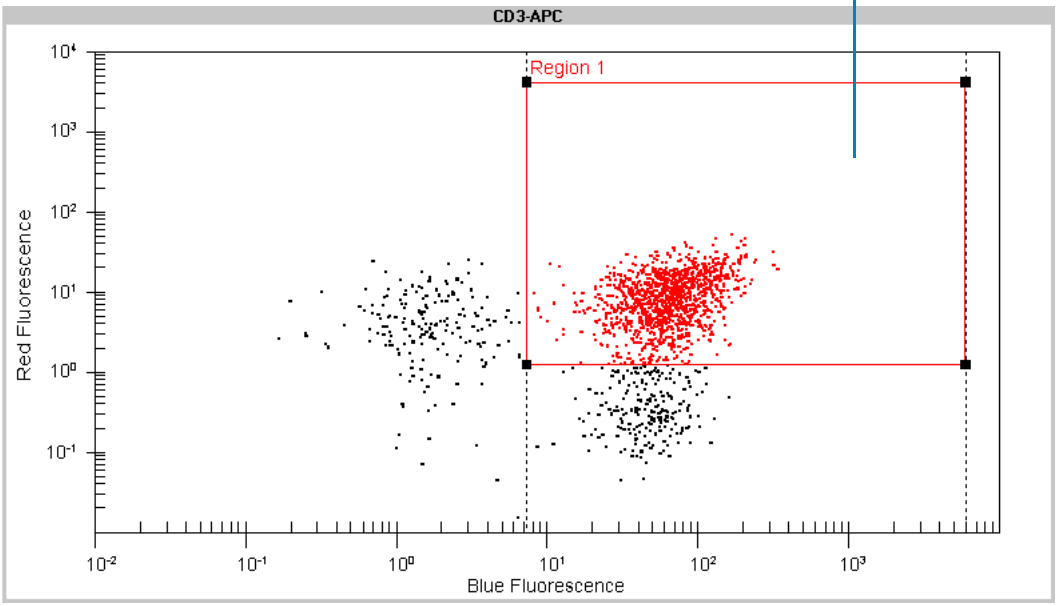
	Marker	# Events	% total	% of gated
▶	Gated by Calcein	1436	91.8	-
	CD3-APC on subset	25	1.6	1.7

Quantità di cellule viventi con valore elevato di fluorescenza rossa rispetto al totale di cellule viventi

Valutazione del dot-plot

Quando si passa alla scheda *Dot Plot*, sul dot-plot viene visualizzata un'area. I valori di fluorescenza rossa dell'area sono correlati al marker dell'istogramma rosso, i valori della fluorescenza blu al marker dell'istogramma blu. Come nella valutazione degli istogrammi, un valore elevato di fluorescenza blu e di fluorescenza rossa significa cellule viventi con anticorpi legati. Vedere l'esempio seguente.

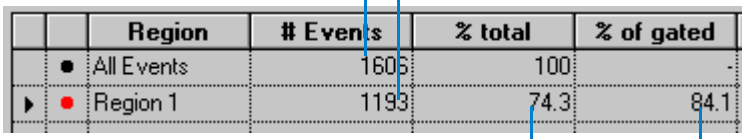
La presenza contemporanea di fluorescenza elevata blu e rossa indica forte legame degli anticorpi marcati



I risultati della valutazione del dot-plot vengono visualizzati numericamente sulla tabella dei risultati:

Eventi coperti dall'area

Tutti gli eventi misurati



	Region	# Events	% total	% of gated
●	All Events	1606	100	-
▶ ●	Region 1	1193	74.3	84.1

Quantità di cellule viventi rispetto a tutte le cellule misurate

Quantità di cellule viventi con legame degli anticorpi elevato rispetto al totale di cellule viventi

Valutazione analisi apoptosi

Il tipo di analisi detto apoptosi può essere utilizzato per esaminare il numero di cellule apoptotiche presenti all'interno di una popolazione cellulare. Le cellule morte (o necrotiche) possono essere escluse dalla valutazione.

Per una descrizione dettagliata sulle modalità di valutazione dei risultati utilizzando gli istogrammi e le aree, vedere la sezione "Utilizzo degli istogrammi per la valutazione" a pagina 238, e "Utilizzo dei dot-plot per la valutazione" a pagina 260.

Cellule viventi o morte

Nella maggior parte dei casi, occorre sapere se in un momento specifico le cellule sono vive o morte. Per questo, come colorante delle cellule viventi si può utilizzare calceina-AM. Questo colorante si accumula nelle cellule intatte, mentre viene eliminato dalle cellule danneggiate. Una volta all'interno delle cellule, l'estere AM incolore viene rotto dall'esterasi, portando alla formazione di calceina altamente fluorescente. Il numero di eventi risultanti da una colorazione con la calceina fornisce così il numero di cellule presenti nel campione. Per informazioni dettagliate vedere la nota applicativa *Apoptosis Detection by Annexin V and Active Caspase 3 with the Agilent 2100 Bioanalyzer* (Rivelazione apoptosi tramite Annexin V e Active Caspase 3 con Bioanalyzer 2100 Agilent).

Cellule apoptotiche

Nelle cellule apoptotiche, la fosfatidilserina non è più confinata nell'intercapedine del doppio strato della membrana plasmatica. La fosfatidilserina diventa accessibile sulla superficie esterna della membrana cellulare e può legarsi con elevata affinità alla proteina annexin V, che può essere marcata con biotin o coloranti come Cy5.

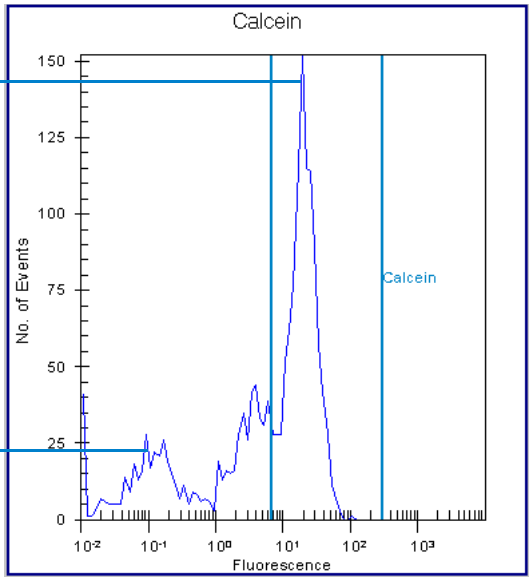
Direzione del filtro

La direzione del filtro va dalla fluorescenza blu (cellule vive) alla fluorescenza rossa (annexin).

Valutazione dell'istogramma

I due istogrammi che visualizzano i risultati dell'analisi sono correlati alla calceina (fluorescenza blu) e ad annexin V (fluorescenza rossa). Valori di fluorescenza elevati nell'istogramma blu indicano cellule viventi, valori bassi corrispondono a cellule morte. Come esempio vedere l'immagine seguente.

Valori di fluorescenza elevati indicano cellule viventi

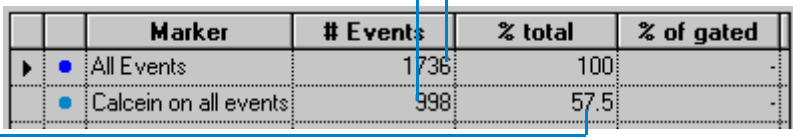


Valori di fluorescenza bassi indicano cellule morte

I valori vengono visualizzati nella tabella dei risultati, ogni istogramma ha la propria tabella:

Tutti gli eventi misurati

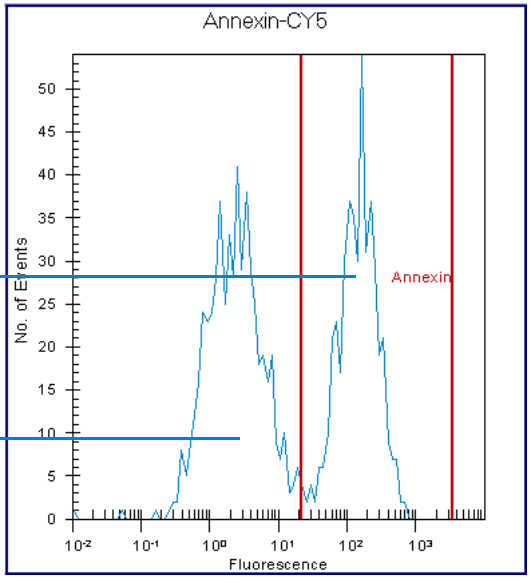
Tutti gli eventi rispetto al marker blu (in questo caso



	Marker	# Events	% total	% of gated
▶	All Events	1736	100	-
	Calcein on all events	998	57.5	-

Cellule viventi rispetto a tutte le cellule analizzate (elevata fluorescenza della calceina)

Quando si utilizza il marker della calceina nell'istogramma blu per il filtro, vengono prese in considerazione solo le cellule viventi per costruire l'istogramma rosso. Valori elevati di fluorescenza rossa indicano cellule viventi, apoptotiche, bassi valori di fluorescenza rossa indicano cellule viventi non apoptotiche. Vedere l'esempio seguente.



Valori di fluorescenza elevati indicano cellule viventi apoptotiche

Valori di fluorescenza elevati indicano cellule viventi non apoptotiche

Quantità di cellule viventi rispetto a tutte le cellule misurate

Percentuale di tutte le cellule con valore elevato di fluorescenza rossa selezionate dal marker rosso

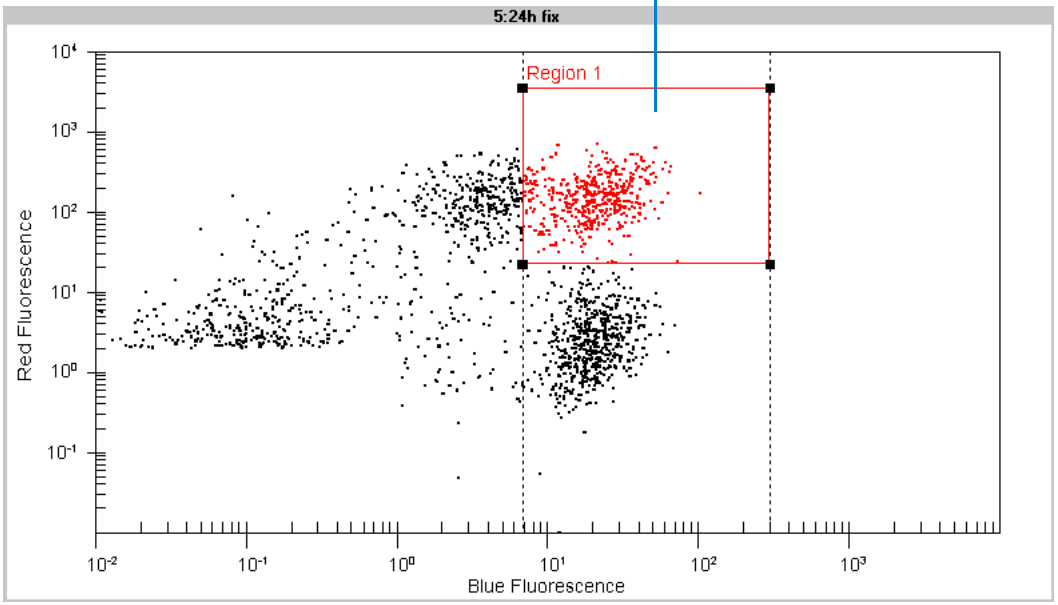
	Marker	# Events	% total	% of gated
	Gated by Calcein	998	57.5	-
▶	Annexin on subset	444	25.6	44.5

Quantità di cellule viventi con valore elevato di fluorescenza rossa rispetto al totale di cellule viventi

Valutazione del dot-plot

Quando si passa alla scheda *Dot Plot*, sul dot-plot viene visualizzata un'area. I valori di fluorescenza rossa dell'area sono correlati al marker dell'istogramma rosso, i valori della fluorescenza blu al marker dell'istogramma blu. Come nella valutazione degli istogrammi, un valore elevato di fluorescenza blu e di fluorescenza rossa significa cellule viventi legate ad annexin V. Vedere l'esempio seguente.

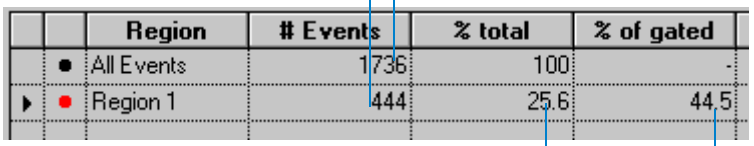
La presenza contemporanea di valori elevati di fluorescenza blu e rossa indica cellule viventi apoptotiche



I risultati della valutazione del dot-plot vengono visualizzati sulla tabella dei risultati.

Tutti gli eventi misurati

Eventi coperti dall'area



	Region	# Events	% total	% of gated
●	All Events	1736	100	-
▶ ●	Region 1	444	25.6	44.5

Quantità di cellule viventi con valore elevato di fluorescenza rossa rispetto al totale delle cellule

Quantità di cellule viventi con valore elevato di fluorescenza rossa rispetto al totale di cellule viventi

Valutazione analisi GFP

Nell'analisi GFP (Proteina verde fluorescente), la sostanza fluorescente non è un colorante, ma una proteina. Le cellule possono essere transfettate con un gene target assieme al gene produttore di GFP. Le cellule transfette producono la proteina fluorescente che può essere rilevata. La fluorescenza indica il successo dell'esperimento di transfezione. Per informazioni dettagliate sull'analisi GFP vedere la nota operativa *Monitoring transfection efficiency by green fluorescent protein (GFP) detection with the Agilent 2100 Bioanalyzer* (Monitoraggio dell'efficienza di transfezione tramite GFP con Bioanalyzer 2100 Agilent).

Per una descrizione dettagliata sulle modalità di valutazione dei risultati utilizzando gli istogrammi e le aree, vedere la sezione "Utilizzo degli istogrammi per la valutazione" a pagina 238, e "Utilizzo dei dot-plot per la valutazione" a pagina 260.

Direzione del filtro

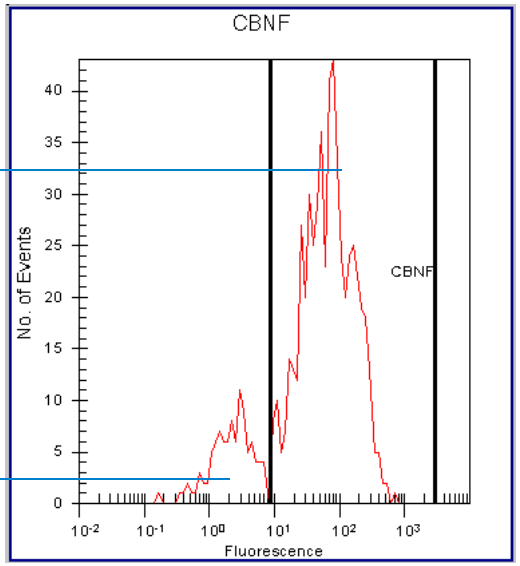
Il GFP presenta fluorescenza verde (assorbimento nel blu). Dato che il colorante di riferimento (CBNF) fluoresce nel rosso, la direzione del filtro sarà da rosso a blu. Il CBNF colora le cellule viventi, così è possibile rilevare le cellule viventi, GFP positive.

Valutazione dell'istogramma

I due istogrammi che visualizzano i risultati dell'analisi sono correlati al CBNF (fluorescenza rossa) e a GFP (fluorescenza blu). Valori di fluorescenza elevati sull'istogramma rosso indicano colorazione con CBNF, che è correlata ad un elevato numero di cellule viventi. Come esempio vedere l'immagine seguente.

Valori di fluorescenza elevati indicano quantità elevate di cellule colorate con CBNF.

Valori di fluorescenza bassi indicano cellule morte



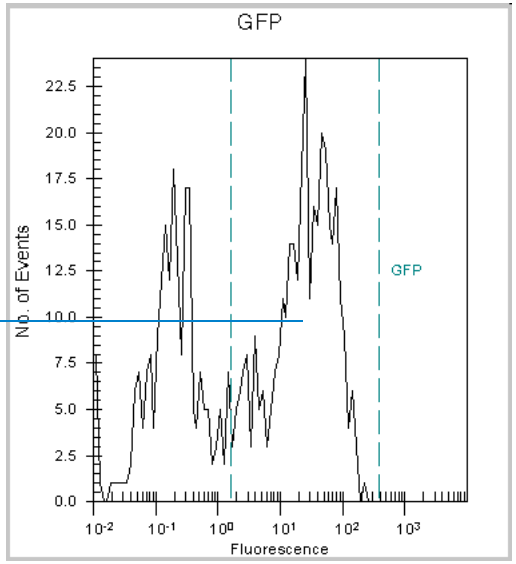
I valori vengono visualizzati nella tabella dei risultati, ogni istogramma ha la propria tabella.

Tutti gli eventi correlati al marker rosso (in questo caso CBNF)

Tutti gli eventi misurati

		Marker	% of gated	% total	# Events
▶	●	All Events	-	100	658
	●	CBNF on all events	-	84.7	557

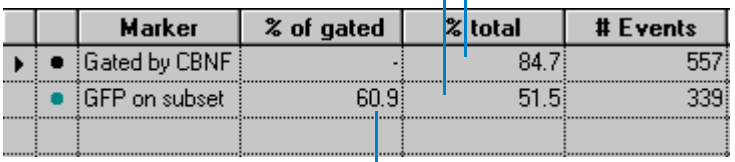
Dopo aver applicato il filtro utilizzando l'istogramma rosso, nell'istogramma blu saranno visualizzate solo le cellule colorate con il CBNF. Valori elevati di fluorescenza blu indicano presenza di cellule produttrici di GFP. Vedere l'esempio seguente.



Valori di fluorescenza elevati indicano cellule produttrici di GFP

Quantità di cellule contenenti CBNF rispetto a tutte le cellule misurate

Percentuale di tutte le cellule con valore elevato di fluorescenza CBNF selezionate dal marker rosso



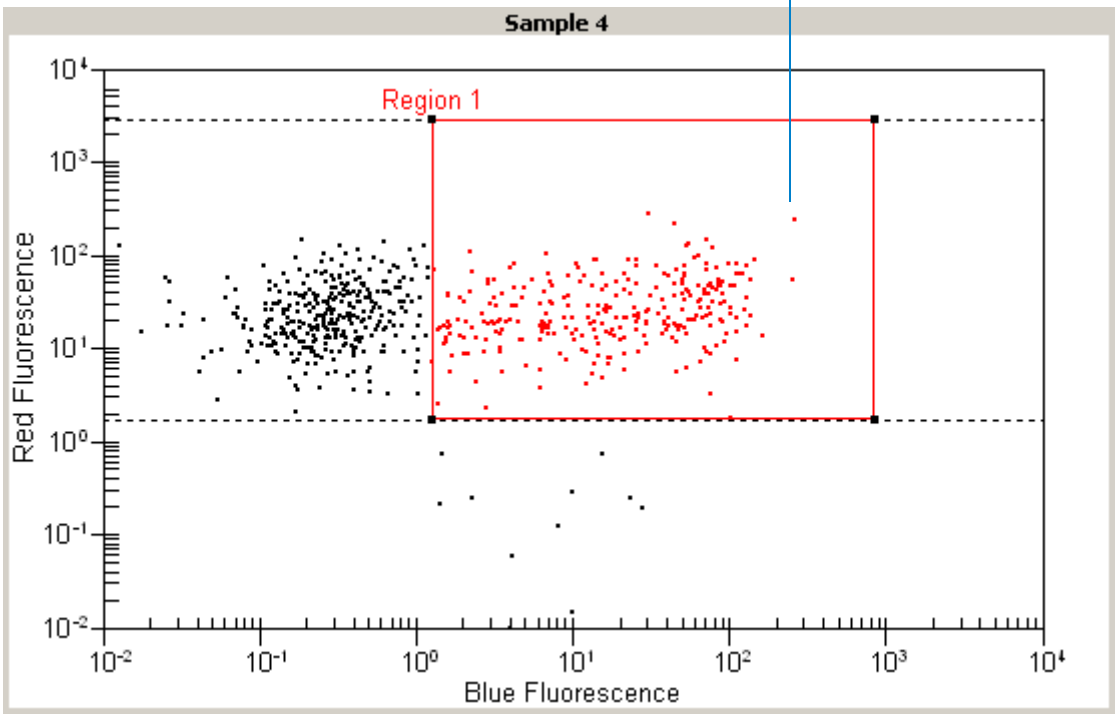
	Marker	% of gated	% total	# Events
▶	Gated by CBNF	-	84.7	557
	GFP on subset	60.9	51.5	339

Quantità di cellule viventi con valore elevato di fluorescenza GFP rispetto al totale delle cellule colorate con CBNF

Valutazione del dot-plot

Quando si passa alla scheda *Dot Plot*, sul dot-plot viene visualizzata un'area. I valori di fluorescenza rossa dell'area sono correlati al marker dell'istogramma rosso, i valori della fluorescenza blu al marker dell'istogramma blu. Come nella valutazione degli istogrammi, un valore elevato di fluorescenza blu e di fluorescenza rossa significa cellule viventi produttrici di GFP. Vedere l'esempio seguente.

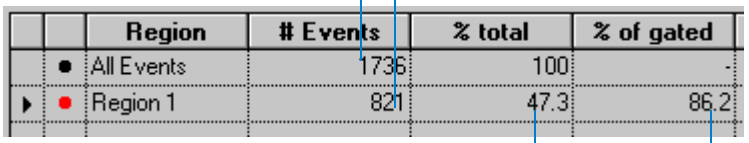
La presenza contemporanea di valori elevati di fluorescenza blu e rossa indica cellule viventi produttrici di GFP



I risultati della valutazione del dot-plot vengono visualizzati sulla tabella dei risultati.

Eventi coperti dall'area

Tutti gli eventi misurati



		Region	# Events	% total	% of gated
	●	All Events	1736	100	-
▶	●	Region 1	821	47.3	86.2

Quantità di cellule con valore elevato di fluorescenza CBNF e fluorescenza GFP in rapporto a tutti gli eventi misurati

Quantità di cellule con valore elevato di fluorescenza GFP rispetto al totale delle cellule colorate con CBNF

Lavorare con i dati di chip e analisi

La conoscenza delle seguenti tecniche operative e di base è essenziale per utilizzare in modo ottimale i dati del chip e di analisi generati dal software 2100 expert.

- "Panoramica dei dati di 2100 Expert" a pagina 291
- "Gestione delle analisi" a pagina 294
- "Gestione dei dati del chip" a pagina 300
- "Organizzazione, recupero e backup dei dati di 2100 Expert" a pagina 302
- "Importazione dei dati" a pagina 304
- "Esportazione dei dati" a pagina 311
- "Stampa dei report" a pagina 323
- "Configurazioni tabelle" a pagina 330
- "Lettura dei registri" a pagina 337

Panoramica dei dati di 2100 Expert

Il software 2100 expert gestisce i dati nei seguenti formati:

- File di analisi (.xsy)
- File di dati del chip (.xad)
- File di confronto (.xac)
- File dei risultati di validazione (.xvd).
- File dei risultati diagnostici (.xdy)
- File di visualizzazione dei risultati di analisi (.xml)

File di analisi.

I file di analisi (.xsy) contengono le seguenti informazioni:

- Impostazioni delle analisi dei dati

  Le impostazioni comprendono comandi dello strumento, parametri di acquisizione dei dati e parametri di valutazione, alcuni dei quali modificabili.
- Informazioni sulle analisi

  Per esempio, tipo d'analisi, titolo e versione.
- Informazioni su chip e campioni

  Queste informazioni comprendono commenti sul chip e nome/commenti sul campione.
- Definizioni di marker e zone (solo analisi citometriche a flusso)

  Comprendono parametri associati, come ad esempio la direzione del filtro.

- Tabelle dello standard e tabella dei picchi (solo analisi elettroforetiche)
- Regole di evidenziazione dei risultati (solo analisi elettroforetiche)

File di dati del chip

I file di dati del chip contengono le seguenti informazioni:

- Risultati delle misurazioni

  Dopo ogni analisi del chip, i risultati delle misurazioni - chiamati anche "dati grezzi" - vengono salvati automaticamente in un nuovo file di dati del chip. I risultati delle misurazioni elettroforetiche sono coppie costituite da tempo di migrazione e valore dell'intensità di fluorescenza, mentre i risultati delle misurazioni citometriche a flusso sono costituite da tre dati, tempo di migrazione, fluorescenza rossa e fluorescenza blu.

- Informazioni sulle analisi di base

  Poiché l'analisi di un chip è sempre basata su un file di analisi, *tutte* le informazioni acquisite dal file d'analisi diventano parte del file di dati del chip.

- Registro di analisi

  Gli eventi che si verificano durante l'analisi del chip, come ad esempio il tempo iniziale ed il tempo finale, oppure qualsiasi problema o errore, vengono inseriti in un "registro d'analisi" che viene anch'esso salvato nel file di dati del chip.

- Informazioni sulla valutazione

  Sono modifiche effettuate durante la valutazione dei dati; ad esempio modifiche alla colorazione del gel, marker impostati manualmente, modifiche delle impostazioni, modifiche delle regole di evidenziazione dei risultati o definizioni di nuovi marker e zone.

File di confronto

È possibile confrontare i risultati di misurazioni di analisi del chip diverse (solo file di dati elettroforetici della stessa classe di analisi), prendendo campioni provenienti da diversi file di dati del chip (.xad) e conservandoli in file di confronto (.xac). È quindi possibile, per esempio, sovrapporre gli elettroferogrammi di questi campioni.

File dei risultati di validazione

I file di validazione dei risultati (.xvd) contengono i risultati dei test di qualificazione relativi all'hardware ed al software del bioanalizzatore. I file vengono memorizzati nella sottocartella "..\validation" della cartella d'installazione del 2100 expert. Per ogni test di validazione, viene generato un file .xvd.

Nel nome del file vengono inclusi data e ora di esecuzione del test di validazione. Esempio: "Validation_25-09-2003_10-28-40.xvd".

File dei risultati diagnostici

Per assicurare il corretto funzionamento dell'hardware del bioanalizzatore occorre eseguire test diagnostici specifici per l'hardware a scadenze regolari. I risultati di questi test dell'hardware vengono memorizzati nei file dei risultati diagnostici (.xdy) nella sottocartella "..\diagnosis" della directory d'installazione del 2100 expert.

File delle regole di evidenziazione dei risultati

Le regole di evidenziazione dei risultati possono essere esportate ed importate da altri file di analisi o dati dei chip. Le regole di evidenziazione dei risultati vengono salvate in file .xml.

Gestione delle analisi

Analisi predefinite

Con 2100 expert vengono fornite analisi predefinite. Queste sono studiate e preparate per misurazioni con l'utilizzo dei kit LabChip disponibili.

Le analisi predefinite, come *Apoptosis* o *DNA 1000* sono protette contro la scrittura. Sebbene sia possibile aprire i file .xsy delle analisi predefinite e modificare alcune delle loro proprietà, non è possibile salvare alcuna modifica con il nome del file originale.

Analisi personalizzate

In ogni caso, è possibile ricavare le proprie analisi sulla base delle analisi predefinite, come descritto in "Come creare un'analisi personalizzata" a pagina 297.

Il beneficio principale delle analisi personalizzate è che quanto di seguito riportato deve essere effettuato *solo una volta*, invece di ripeterlo continuamente nei file di ati:

- Modificare le impostazioni d'analisi (impostazioni delle analisi dei dati).
- Inserire informazioni su chip. campioni e studio.

  Per esempio, se i nomi dei campioni devono essere gli stessi per una serie di analisi del chip.
- Definire le regole di evidenziazione dei risultati (solo analisi elettroforetiche).
- Definire marker e zone per la valutazione (solo analisi citometrica a flusso *Generica*).

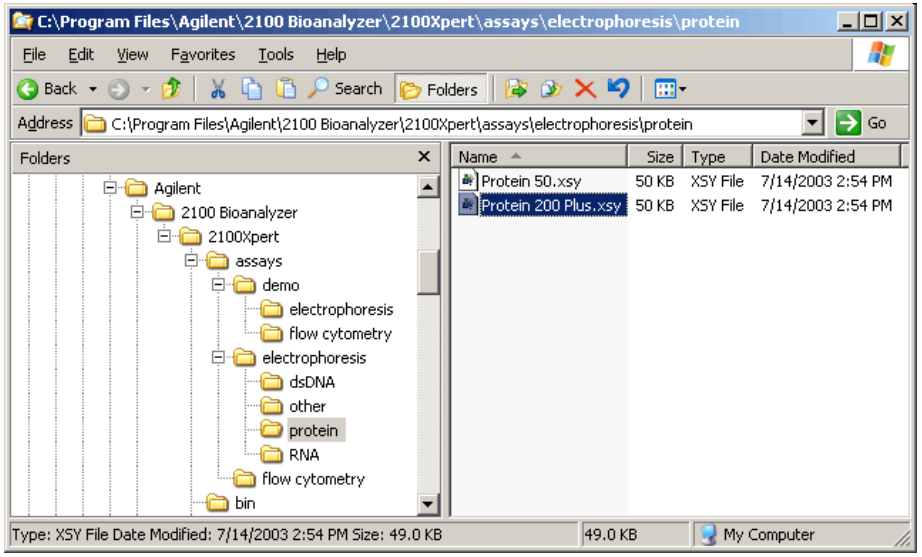
  Per esempio, Per regolare le posizioni dei marker ed utilizzarle per analisi dei chip future.

Le analisi personalizzate possono essere modificate in qualsiasi momento. Vedere la sezione “Come modificare un'analisi personalizzata” a pagina 299.

SUGGERIMENTO

Per visualizzare le proprietà di un'analisi personalizzata, è possibile aprire il file di analisi in modalità di sola lettura (vedere “Open (Apri)” a pagina 601), facendo attenzione a non effettuare modifiche accidentali.

Il menu *Assays* (Analisi) (vedere “Menu Assays (Analisi)” a pagina 395) è costruito dinamicamente in base alla struttura ed al contenuto della sottodirectory “..\assays” del file d'installazione di 2100 expert.



SUGGERIMENTO

È possibile aggiungere voci del menu *Assays* (Analisi) mettendo i file di analisi (.xsy) - per esempio le proprie analisi - in sottodirectory della directory "..\assays".

Come creare un'analisi personalizzata

Per creare un'analisi personalizzata:

1 Passare al contesto *Data and Assay* (Dati e analisi).

2 Dal menu *Assays* (Analisi), selezionare un'analisi.

– OPPURE –

Selezionare *File* > *Open* (File > Apri) ed aprire un file di analisi (.xsy) o un file di dati del chip (.xad).

Il file viene visualizzato nel *Pannello della struttura ad albero*.

NOTA

Per creare una nuova analisi citometrica a flusso con direzione del filtro libera o con più di un marker o regione, aprire e modificare il file di analisi "Generic.xsy".

---

3 Modificare il file effettuando modifiche nelle cartelle seguenti:

- Modificare le impostazioni d'analisi nella *Scheda Assay Properties (Proprietà d'analisi)*.
- Inserire informazioni su chip, campione e studio nella *Scheda Chip Summary (Riepilogo chip)*.
- Per le analisi citometriche a flusso, definire marker e zone nella *Scheda Histogram (Single/Grid View) (Istogramma (Visualizzazione singola/a griglia))* e nella *Scheda Dot-Plot (Single/Grid view) (Visualizzazione singola/a griglia)*.

– Per le analisi elettroforetiche, definire le regole di evidenziazione nella *Scheda Result Flagging (Evidenziazione dei risultati)*.

4 Selezionare *File* > *Save As...* (File > Salva con nome) per aprire la finestra di dialogo *Save As* (Salva con nome).

5 In *Save as type* (Salva come tipo) selezionare *(.xsy)*, quindi inserire un nome e posizione per la nuova analisi.

6 Fare clic su *Save* (Salva) per creare una nuova analisi.

Come modificare un'analisi personalizzata

NOTA

Non è possibile salvare le modifiche di analisi predefinite come *Apoptosis* o *DNA 1000*.

Per modificare un'analisi personalizzata:

1. Nel menu *File*, selezionare *Open* (Apri).

   Viene visualizzata la finestra di dialogo *Open (Apri)*.

2. Selezionare un file di analisi (.xsy) e fare clic su *Open* (Apri).

   L'analisi viene visualizzata nel *Pannello della struttura ad albero* e viene visualizzata la *Scheda Assay Properties (Proprietà d'analisi)*.

3. Modificare l'analisi effettuando modifiche nelle cartelle seguenti:
   - Modificare le impostazioni d'analisi nella *Scheda Assay Properties (Proprietà d'analisi)*.
   - Modificare e inserire informazioni aggiuntive su chip, campione e studio nella *Scheda Chip Summary (Riepilogo chip)*.
   - Per le analisi citometriche a flusso, definire marker e zone nella *Scheda Histogram (Single/Grid View) (Istogramma (Visualizzazione singola/a griglia))* e nella *Scheda Dot-Plot (Single/Grid view) (Visualizzazione singola/a griglia)*.
   - Per le analisi elettroforetiche, definire le regole di evidenziazione nella *Scheda Result Flagging (Evidenziazione dei risultati)*.

4. Nel menu *File*, selezionare *Save* (Salva).

Gestione dei dati del chip

I file di dati del chip (.xad) vengono generati automaticamente al termine di un'analisi di un chip. I file .xad vengono denominati in base alle scelte effettuate nella finestra di dialogo *Options* (Opzioni) (vedere la sezione "Come specificare i nomi e le directory dei file di dati" a pagina 345).

Modifica e salvataggio dei file di dati del chip

2100 expert consente di riaprire i file di dati , rianalizzarli utilizzando diversi parametri di valutazione e salvare i nuovi risultati. Le modifiche possono essere salvate nel file originale (*File* > *Save*) o in un nuovo file (*File* > *Save As...*).

NOTA

I dati grezzi acquisiti dal bioanalizzatore *non* vengono modificati - solo la valutazione e la visualizzazione dei risultati possono essere salvate.

Se si modificano in un modo qualsiasi i dati mostrati dopo che sono stati salvati e si tenta di chiudere il programma o di passare ad un contesto diverso (per esempio, per acquisire nuovi dati), apparirà una finestra di dialogo che richiede Per salvare le modifiche (vedere la sezione"2100 Expert – Close (Chiudi)" a pagina 585).

Apertura di file dei dati del chip come sola lettura

Un file di dati del chip può essere aperto in sola lettura; in questo caso la *Barra del titolo* visualizza "(Read-Only)" (Sola lettura) dopo il nome del file. Il file di sola lettura può essere modificato ma non può essere salvato con lo stesso nome. Se si tenta di salvare un file di sola lettura che è stato modificato, viene visualizzato un messaggio di errore che indica che il file è di sola lettura.

Il lato positivo dell'apertura dei file di dati come sola lettura è di evitare che l'utente o altri utilizzatori possano effettuare modifiche che possano alterare il file in qualsiasi modo. Dato che il software 2100 expert consente di aprire file di dati, modificare i dati e salvarli, conviene assicurarsi che i parametri originali utilizzati per creare il file non possano essere alterati.

Organizzazione, recupero e backup dei dati di 2100 Expert

Prima d'iniziare a lavorare con il software 2100 expert, è buona prassi organizzare i propri file. Se il bioanalizzatore viene utilizzato da più utenti, si consiglia di creare una directory personale entro cui salvare i propri file; in questo modo, avendo ogni persona salvato i file nella propria directory, si accelererà il processo di ricerca di un dato file quando si desidera riesaminare i dati. Anche se il 2100 expert viene utilizzato da una sola persona, è comunque consigliabile di rivedere i propri file periodicamente, archiviando i file che non si utilizzano più ma che si desidera salvare e scartando quelli che non servono più.

Organizzazione dei dati di 2100 Expert

Ogni utente del laboratorio può specificare un particolare prefisso per differenziare i propri dati da quelli degli altri. Per fare ciò, scegliere *Tools* > *Options...* (Strumenti > Opzioni), selezionare la scheda *Data Files* (File di dati) della finestra di dialogo *Options* (Opzioni), selezionare la casella di controllo *Prefix* (Prefisso) ed impostare la stringa del prefisso desiderata (vedere anche la sezione "Options – Data Files (Opzioni – File di dati)" a pagina 587. È possibile modificare il prefisso del file prima di avviare l'analisi di un chip, vedere la sezione "Scheda Instrument (Strumento) (Visualizzazione singola)" a pagina 472. Inoltre, è possibile specificare che ogni giorno venga creata una nuova directory per la memorizzazione dei dati di quello specifico giorno. Per fare ciò, selezionare la casella di controllo *Create Daily Subdirectories* (Crea sottodirectory giornaliere) sul fondo della scheda *Data Files* (File di dati) della finestra di dialogo *Options* (Opzioni).

Backup dei dati di 2100 Expert

È sempre consigliabile archiviare i file in un disco di backup per conservarli al sicuro e/o per rimuovere i file dal disco fisso periodicamente. In base alla quantità di spazio disponibile sul disco fisso per il software 2100 expert, può essere necessario liberare dello spazio sul disco fisso per assicurare di avere abbastanza spazio per i dati di analisi del chip in arrivo.

Importazione dei dati

2100 expert consente di riprocessare i file di analisi e del chip provenienti dalle applicazioni *Bio Sizing* e *Cell Fluorescence*. Questo viene descritto in :

- "Importazione di file del bioanalizzatore" a pagina 305

Quando si lavora con i file di analisi (.xsy) o di dati del chip (.xad), si inseriscono informazioni specifiche che successivamente possono essere riutilizzate. A questo scopo, 2100 expert è dotato delle seguenti capacità d'importazione:

- "Importazione di impostazione di analisi dei dati" a pagina 307
- "Importazione di informazioni relative a chip, campione e studio" a pagina 309

È possibile importare le definizioni delle regole di evidenziazione dei risultati per l'evidenziazione dei risultati in file di analisi elettroforetiche o in file di dati del chip:

- "Importazione delle regole di evidenziazione dei risultati" a pagina 310

Importazione di file del bioanalizzatore

NOTA

I file del bioanalizzatore importati e salvati nel software *2100 expert* non possono più essere aperti con i programmi originali (*Bio Sizing* e *Cell Fluorescence*). Comunque, questi file del bioanalizzatore non verranno sovrascritti, perché *2100 expert* utilizza un'estensione di file differente.

Per importare file acquisiti in *Bio Sizing* o *Cell Fluorescence*:

1. Passare al contesto *Data and Assay* (Dati e analisi).
2. Nel menu *File*, selezionare *Import...* (Importa) per visualizzare la finestra di dialogo *Open* (Apri).
3. Selezionare un tipo di file .asy, .csy, .cld, o .cad.
4. Fare clic su *Open* (Apri)

Il file importato viene visualizzato nel *Pannello della struttura ad albero*, e

- se è stato importato un file di dati del chip, la visualizzazione a griglia dell'elettroferogramma mostrerà una panoramica di tutti i campioni; vedere la sezione "Scheda Electropherogram (Single/Grid View) (Elettroferogramma (Visualizzazione singola/griglia))" a pagina 526.
- se è stato importato il file di analisi, la scheda *Assay Properties* (Proprietà di analisi) mostra informazioni relative all'analisi; vedere la sezione "Scheda Assay Properties (Proprietà d'analisi)" a pagina 487.

Durante l'importazione, il file viene convertito in un nuovo file 2100 expert :

I file del bioanalizzatore di questi formati	vengono convertiti in
.asy (analisi *Bio Sizing*)	.xsy (*2100 expert* analisi)
.cld (dati del chip *Bio Sizing*)	.xad (*2100 expert* dati del chip)
.csy (analisi *Cell Fluorescence*)	.xsy (*2100 expert* analisi)
.cad (dati del chip *Cell Fluorescence*)	.xad (*2100 expert* dati del chip)

Il nuovo file 2100 expert eredita il nome del vecchio file del bioanalizzatore, ma non l'estensione.

Esempio: Per esempio: se si importa il file “Checkout Beads.asy” dalla directory “P:\OldAssays”, un nuovo file con nome “Checkout Beads.xsy” sarà creato in “P:\OldAssays”.

Importazione di impostazione di analisi dei dati

È possibile importare impostazioni di analisi dei dati da altri file di analisi (.xsy) o di dati del chip (.xad) dello stesso tipo.

Durante l'importazione, è utile ricordare che:

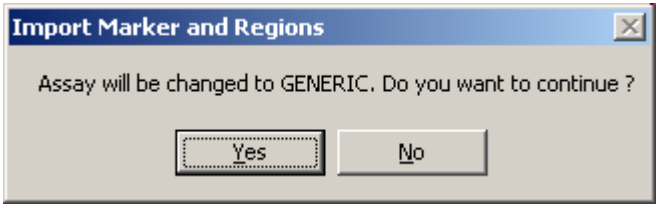
- I file elettroforetici da importare devono essere dello stesso tipo di analisi. Questo significa che non è possibile importare impostazioni dell'analisi DNA 1000 in un'analisi DNA 500.
- I file di citometria a flusso da importare possono essere di qualsiasi tipo di analisi citometrica a flusso, ma l'importazione cambierà il tipo del file corrente in *Generic* (Generico).

Per importare impostazioni di dati d'analisi:

1. Nella scheda *Assay Properties* (Proprietà d'analisi), fare clic su *Import Setpoints...* (Importa impostazioni).
2. Viene visualizzata la finestra di dialogo *Open* (Apri).
3. Selezionare il file da cui si desidera importare e fare clic su *Open* (Apri).

NOTA

Per i file di citometria a flusso, l'importazione *cancella* tutti i marker e le zone esistenti nel file corrente e modificherà l'analisi attuale in analisi *Generic* (Generiche). Viene visualizzata una finestra di dialogo che chiede di confermare questa modifica.



4 Fare clic su *Yes* (Si).

NOTA

L'importazione delle impostazioni di analisi dei dati *sovrascrive* tutti i valori d'impostazione attuali.

- Per tutti i file: i valori d'impostazione vengono aggiornati sul navigatore delle impostazioni (vedere la sezione"Scheda Assay Properties (Proprietà d'analisi)" a pagina 487) ed applicati immediatamente ai risultati della misurazione (se presenti).
- Flow cytometry files: i nuovi marker e le nuove zone sono ora disponibili per la valutazione e vengono effettuati immediatamente i calcoli sulla base dei nuovi marker e delle nuove regioni (vedere i risultati delle tabelle in "Scheda Histogram (Single/Grid View) (Istogramma (Visualizzazione singola/a griglia))" a pagina 540 e in "Scheda Dot-Plot (Single/Grid view) (Visualizzazione singola/a griglia)" a pagina 550).

5 Dal menu *File*, selezionare *Save* (Salva) per rendere permanenti le modifiche.

Importazione di informazioni relative a chip, campione e studio

Sulle sottocartelle *Sample Information* (Informazioni sul campione) e *Study Information* (Informazioni sullo studio) della scheda *Chip Summary* (Riassunto chip), è possibile inserire nomi e commenti relativi a chip, campioni e studio. Le informazioni qui inserite possono essere molto simili a quelle per ulteriori misurazioni del chip e per altre analisi. Una volta inserite le informazioni, è possibile esportarle in un file separato (vedere la sezione "Esportazione di dati d'analisi del chip" a pagina 312), che può poi essere importato in un altro file di dati del chip (.xad) o di analisi (.xsy), evitando di dover digitare di nuovo le informazioni.

I file di importazione/esportazione possono avere l'estensione .txt o .csv ed avere una forma fissa, che è diversa per le analisi elettroforetiche o citometriche a flusso.

Per importare informazioni relative a chip, campione e studio:

1. Nella scheda *Chip Summary* (Riassunto chip) fare clic su *Import...* (Importa).
2. Viene visualizzata la finestra di dialogo *Import Sample Information* (Importa informazioni sul campione).
3. Selezionare il file che contiene le informazioni che si desidera importare e fare clic su *Open* (Apri).

   Le sottocartelle *Sample Information* (Informazioni sul campione) *Study Information* (Informazioni sul campione) si aggiornano per mostrare i dati importati.
4. Dal menu *File*, selezionare *Save* (Salva) per rendere permanenti le modifiche.

Importazione delle regole di evidenziazione dei risultati

È possibile importare le regole di evidenziazione dei risultati in file di analisi elettroforetiche (.xsy) o in file di dati del chip (.xad). Le regole di evidenziazione dei risultati vengono salvate in file .xml (vedere la sezione "Esportazione delle regole di evidenziazione dei risultati" a pagina 322).

Per importare le regole di evidenziazione dei risultati:

1. Selezionare il contesto *Data and Assay* (Dati e analisi) e caricare un'analisi elettroforetica o un file di dati del chip.
2. Passare alla *Scheda Result Flagging (Evidenziazione dei risultati)*.
3. Sulla barra degli strumenti *Result Flagging* (Evidenziazione risultati) fare clic su  .

   Viene visualizzata la finestra di dialogo *Load Rules* (Carica regole).
4. Selezionare il file .xml che contiene la serie di regole di evidenziazione dei risultati e fare clic su *Open* (Apri).

Le regole importate appaiono nell'elenco delle regole.

NOTA

Le regole importate non vengono memorizzate nel file di analisi o di dati del chip fino a che non vengono salvati.

Esportazione dei dati

2100 expert consente di esportare i risultati dell'analisi del chip in diversi formati. I dati esportati possono essere utilizzati per ulteriori valutazioni con altre applicazioni, come elaboratori di testo, strumenti grafici, MS Excel®, o applicazioni di citometria a flusso.

I dati di analisi del chip possono essere esportati sia manualmente che automaticamente:

- "Esportazione di dati d'analisi del chip" a pagina 312
- "Esportazione automatica di dati d'analisi del chip" a pagina 314

È anche possibile esportare solo parti dei risultati delle misurazioni:

- "Esportazione di tabelle" a pagina 315
- "Esportazione di grafici" a pagina 317
- "Inserimento di grafici e tabelle negli appunti" a pagina 319

Le informazioni inserite per documentare l'analisi di un chip possono essere esportate per il riutilizzo in analisi successive:

- "Esportazione di informazioni relative a chip, campione e studio" a pagina 321

Dai file delle analisi elettroforetiche o dai file di dati del chip, è possibile esportare anche definizioni delle regole per l'evidenziazione dei risultati:

- "Esportazione delle regole di evidenziazione dei risultati" a pagina 322

Esportazione di dati d'analisi del chip

Per esportare i dati d'analisi del chip:

1. Passare al contesto *Data and Assay* (Dati e analisi).
2. Sul *Pannello della struttura ad albero*, selezionare un file di dati del chip (.xad) o caricare un file.
3. Nel menu *File*, selezionare *Export* (Esporta).

   Se si seleziona un file di dati del chip elettroforetico, viene visualizzata la finestra di dialogo *Export Options (Opzioni di esportazione) (Elettroforesi)*.

   Se si seleziona un file di dati del chip citometrico a flusso, viene visualizzata la finestra di dialogo *Export Options (Opzioni di esportazione) (Citometria a flusso)*.
4. Selezionare le categorie da esportare e specificare una directory di destinazione.

   Vedere la sezione *"Export Options (Opzioni di esportazione) (Elettroforesi)" a pagina 607* o *"Export Options (Opzioni di esportazione) (Citometria a flusso)" a pagina 603* per informazioni più dettagliate sulle opzioni d'esportazione.

NOTA

Tenere in considerazione che l'esportazione di un file di dati del chip può richiedere fino a 20 MB di spazio su disco. In particolare, gli elettroferogrammi ed immagini gel-simili come file .tif o .bmp possono occupare molto spazio sul disco.

---

5. Fare clic su *Export* (Esporta).

Vengono visualizzate varie finestre di dialogo del sistema, una per ogni categoria di esportazione, che consentono di controllare e modificare i nomi e le posizioni dei file da esportare. Fare clic sul pulsante *Save* (Salva) in queste finestre di dialogo per avviare l'esportazione.

SUGGERIMENTO

I dati d'analisi del chip possono essere esportati automaticamente ogni volta che viene terminata l'analisi di un chip. Vedere la sezione *"Esportazione automatica di dati d'analisi del chip" a pagina 314* per informazioni più dettagliate.

Esportazione automatica di dati d'analisi del chip

NOTA

Tenere in considerazione che l'esportazione di un file di dati del chip può richiedere fino a 20 MB di spazio su disco. In particolare, elettroferogrammi ed immagini gel-simili come file

Per abilitare e configurare l'esportazione automatica:

1. Nel menu *Tools* (Strumenti) selezionare *Options...* (Opzioni).

   Viene visualizzata la finestra di dialogo *Options* (Opzioni).

2. Selezionare la scheda *Advanced* (Avanzate).

3. Selezionare *Auto Export* (Esportazione automatica), quindi fare clic sul pulsante *Settings...* (Impostazioni) accanto a questa opzione.

   Viene visualizzata la finestra di dialogo *Auto Export* (Esportazione automatica).

4. Specificare le categorie da esportare e le directory di destinazione per analisi elettroforetiche e citometriche a flusso. Vedere la sezione *"Auto Export (Esportazione automatica)" a pagina 611* per informazioni dettagliate sulle opzioni d'esplorazione.

5. Fare clic su *OK* per confermare le impostazioni di esportazione automatica.

6. Fare clic su *OK* per avviare l'esportazione automatica.

Da questo momento in poi, i dati d'analisi del chip vengono esportati automaticamente ogni volta che viene terminata l'analisi di un chip.

NOTA

Se si interrompe l'analisi di un chip, l'esportazione automatica *non* viene effettuata.

Esportazione di tabelle

È possibile esportare:

- Tabelle dei risultati, tabelle dei picchi, tabelle dei frammenti e tabelle degli standard come file .csv o file .xls.
- Tabelle dei registri come file .html o .txt.

Per esportare una tabella dei risultati, una tabella dei picchi, una tabella dei frammenti o una tabella dello standard:

1. Nelle tabelle *Assay Properties* (Proprietà d'analisi), *Electropherogram* (Elettroferogramma), *Gel*, *Histogram* (Istogramma) o *Dot Plot*, fare clic con il pulsante destro sulla riga del titolo della tabella.
2. Nel menu del contesto, selezionare *Export...* (Esporta).

   Viene visualizzata la finestra di dialogo *Save As* (Salva con nome).
3. Inserire un nome per il file e scegliere la directory di destinazione.
4. Selezionare .csv o .xls come formato d'esportazione del file.
5. Fare clic su *Save* (Salva).

SUGGERIMENTO

Le tabelle dei risultati possono essere esportate automaticamente ogni volta che viene terminata l'analisi di un chip. Vedere la sezione *"Esportazione automatica di dati d'analisi del chip" a pagina 314* per informazioni più dettagliate.

Per esportare una tabella di registro:

1. Nella scheda *Log Book* (Tabella di registro), fare clic con il pulsante destro su una tabella.
2. Nel menu del contesto, selezionare *Export...* (Esporta).

   Viene visualizzata la finestra di dialogo *Export Data* (Esporta dati).
3. Inserire un nome per il file e scegliere la directory di destinazione.
4. In *Export file format* (Formato file esportazione) selezionare *HTML file* (File HTML) per avere un file .html in uscita, o *Tabbed text file* (File di testo) per avere un file .txt.
5. Fare clic su *OK*.

Esportazione di grafici

È possibile esportare i seguenti grafici come singoli file grafici:

- Immagini gel-simili
- Elettroferogramma
- Panoramica elettroferogramma
- Istogramma
- Dot-plot
- Curva standard
- Curva di calibrazione
- Segnali grezzi (durante l'analisi del chip)

Per esportare un grafico:

1. Fare clic con il pulsante destro sul grafico e selezionare Copy Graph to File (Copia grafico su file) nel menu del contesto.

   – OPPURE –

   Oppure fare clic sul pulsante  sulla barra degli strumenti.

   Viene visualizzata la finestra di dialogo *Save As* (Salva con nome).

2. In *File name* (Nome del file) inserire un nome e scegliere la directory di destinazione.
3. In *Save as type*, (Salva come tipo), selezionare un formato grafico: .bmp, .jpg, .wmf, .tif or .gif.
4. Fare clic su *Save* (Salva).

Il grafico viene scritto nel file specificato.

È utile ricordare che:

- Istogrammi: solo un grafico dell'istogramma viene esportato, l'istogramma rosso o quello blu.
- Elettroferogrammi: le la visualizzazione a griglia è attiva, viene esportata un'immagine panoramica degli elettroferogrammi (*tutti* i campioni e lo standard).

SUGGERIMENTO

Elettroferogrammi, immagini gel-simili, istogrammi e dot-plot possono essere esportati automaticamente ogni volta che viene terminata un'analisi del chip. Vedere la sezione *"Esportazione automatica di dati d'analisi del chip" a pagina 314* per informazioni più dettagliate.

Inserimento di grafici e tabelle negli appunti

Negli appunti possono essere inseriti i seguenti elementi:

- Immagini gel-simili
- Elettroferogramma
- Panoramica elettroferogramma
- Istogramma
- Dot-plot
- Curva standard
- Curva di calibrazione
- Segnali grezzi (durante l'analisi del chip)

La copia di un grafico provoca l'inserimento negli appunti di una bitmap indipendente dal dispositivo.

Negli appunti possono essere inserite le seguenti tabelle (o parti di tabelle):

- Tabelle dei risultati
- Tabelle dei picchi
- Tabelle dei frammenti
- Tabelle degli standard
- Tabelle di registro

La copia di tabelle provoca l'inserimento negli appunti di file ASCII.

Per mettere un grafico o una tabella negli appunti:

1 Fare clic con il pulsante destro sul grafico o tabella (zona).

2 Nel menu del contesto, selezionare *Copy Gel* (Copia gel) *Copy Electropherogram* (Copia elettroferogramma) (grafici) o *Copy To Clipboard* (Copia negli appunti) (tabelle).

– OPPURE –

Fare clic sul pulsante  sulla barra degli strumenti.

Ora è possibile passare ad un elaboratore di testi, ad un foglio elettronico, a programmi di grafica o ad altre applicazioni.

Esportazione di informazioni relative a chip, campione e studio

Nelle sottocartelle *Sample Information* (Informazioni sul campione) e *Study Information* (Informazioni sullo studio) della scheda *Chip Summary* (Riassunto chip), è possibile inserire nomi e commenti relativi a chip, campioni e studio. Le informazioni qui inserite possono essere molto simili a quelle per ulteriori misurazioni del chip e per altre analisi. Dopo aver inseritole informazioni, è possibile esportarle in un file separato, che può poi essere importato in un altro file di dati del chip (.xad) o di analisi (.xsy) per evitare di doverle digitare nuovamente.

I file di importazione/esportazione possono avere l'estensione .txt o .csv ed avere una forma fissa, che è diversa per le analisi elettroforetiche o citometriche a flusso.

Per esportare informazioni relative a chip, campione e studio in un file:

1. Nella scheda *Chip Summary* (Riassunto chip) fare clic su *Export...* (Esporta).

   Viene visualizzata la finestra di dialogo *Export Sample Information* (Esporta informazioni sul campione).

2. Specificare un nome ed una posizione per il file in cui si desidera esportare.

3. Fare clic su *Save* (Salva).

Esportazione delle regole di evidenziazione dei risultati

Le regole di evidenziazione dei risultati possono essere esportate per il riutilizzo in altri file di analisi elettroforetica (.xsy) o in file di dati del chip (.xad) (vedere la sezione "Importazione delle regole di evidenziazione dei risultati" a pagina 310). Le regole di evidenziazione dei risultati vengono salvate in file .xml.

Per esportare le regole d'evidenziazione dei risultati:

1. Selezionare il contesto *Data and Assay* (Dati e analisi) e caricare un'analisi o un file di dati del chip.

   – OPPURE –

   Nel *Pannello della struttura ad albero*, selezionare l'analisi elettroforetica o il file di dati del chip che contiene le regole di evidenziazione dei risultati.

2. Selezionare la *Scheda Result Flagging (Evidenziazione dei risultati)*.

3. Sulla barra degli strumenti *Result Flagging* (Evidenziazione risultati) fare clic su  .

   Viene visualizzata la finestra di dialogo *Save Rule Definitions* (Salva definizioni regola).

4. Sfogliare per cercare una cartella dove memorizzare le regole e specificare un nome per il file .xml.

5. Fare clic su *Save* (Salva).

Stampa dei report

A scopo di documentazione e presentazione, è possibile stampare report di analisi (.xsy), dati del chip (.xad), risultati di validazione (.xvd), e file di confronto (.xac).

È possibile stampare tutti i report manualmente, come descritto nella sezione "Come stampare il report di un'analisi del chip" a pagina 324. Durante la stampa manuale, una funzione di anteprima consente di visualizzare la stampa prima di inviare il file alla stampante.

Il programma 2100 expert può anche essere impostato per stampare report di analisi del chip personalizzati in modo automatico al termine dell'analisi. Questi report possono essere impostati per contenere diverse informazioni (le impostazioni per le funzioni di stampa manuale ed automatica vengono mantenute separate. Vedere la sezione "Come attivare e configurare la stampa automatica dei report d'analisi del chip" a pagina 328 per ulteriori informazioni.

SUGGERIMENTO

Oltre ad inviare report ad una stampante, è anche possibile creare file .pdf e .html.

Come stampare il report di un'analisi del chip

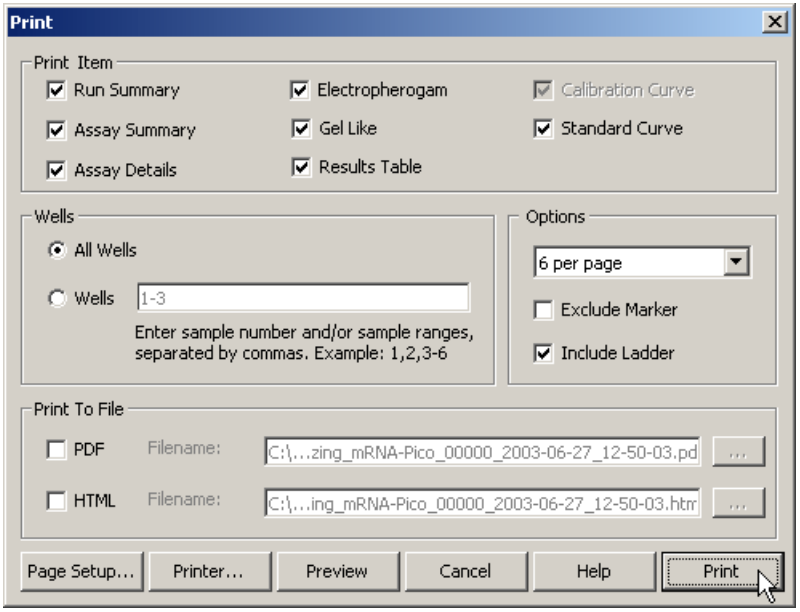
Nel report d'analisi di un chip possono essere incluse le seguenti informazioni:

- È sempre possibile includere:
  - Riassunto d'analisi: dati generali relativi all'analisi ed informazioni sul campione.
  - Dettagli d'analisi: un elenco completo di impostazioni di dati d'analisi.
- Per file di dati del chip (.xad) è possibile includere:
  - Riassunto analisi del chip - informazioni generali sull'analisi del chip.
- Per file di dati del chip *citometrico a flusso* (.xad) è possibile includere:
  - Riassunto dell'istogramma: tutti gli istogrammi visualizzati contemporaneamente in una panoramica.
  - Statistiche degli istogrammi: tutti i dati statistici delle tabelle dei risultati degli istogrammi blu e rosso.
  - Riassunto dot-plot: tutte le zone visualizzate contemporaneamente in una panoramica.
  - Statistiche dot-plot: tutti i dati statistici della tabella dei risultati.
- Per i file di dati del chip *elettroforetico* (.xad), in base al tipo di analisi è possibile includere: è possibile includere:
  - Elettroferogrammi
  - Immagini gel-simili
  - Tabelle dei risultati
  - Curva standard
  - Curva di calibrazione

Per stampare un report:

1. Passare al contesto *Data and Assay* (Dati e analisi).
2. Selezionare un file nel *Pannello della struttura ad albero* , un file d'analisi (.xsy) o un file di dati del chip (.xad).
3. Nel menu *File*, selezionare *Print...* (Stampa).

   In base al tipo di file vengono visualizzate finestre di dialogo diverse.



4. In *Print Item* (Stampa voce) e *Samples* (Campioni) selezionare ciò che si desidera stampare.

Abilitando le opzioni desiderate, è possibile stampare una voce o una combinazione delle voci mostrate in questo capitolo. È possibile stampare dati da un range di pozzetti (che devono essere consecutivi): scegliere *Samples* (Campioni) dal capitolo *Samples* e quindi inserire i pozzetti che si desidera stampare, seguendo le istruzioni visualizzate nella finestra di dialogo. Vedere la sezione anche *"Print (Stampa) (Elettroforesi)" a pagina 622*/*"Print (Stampa) (Citometria a flusso)" a pagina 618* per informazioni più dettagliate.

NOTA

Queste selezioni sono diverse dalle selezioni effettuate in *Auto Print (Stampa automatica)* (non si influenzano a vicenda). Entrambe saranno utilizzate come predefinite alla stampa successiva (anche dopo il riavvio del programma).

---

5 Utilizzare i pulsanti *Page Setup...* (Impostazione pagina) e *Printer...* (Stampante) per aprire le finestre di dialogo del sistema, che consentono di selezionare una stampante e specificare il supporto di stampa ed il layout della pagina.

6 Oppure, fare clic su *Preview* (Anteprima) per aprire la finestra di dialogo *Report Preview (Anteprima report)* , che consente di controllare il layout della pagina prima di avviare la stampa. Vedere la sezione "Report Preview (Anteprima report)" a pagina 650.

7 In *Save To File* (Salva su file) verificare che entrambe le opzioni *PDF* e *HTML* siano deselezionate, quindi fare clic su *Print* (Stampa) per inviare la stampa alla stampante.

– OPPURE –

Selezionare *PDF* e/o *HTML*, e fare clic su *Save* (Salva) per inviare la stampa al/i file.

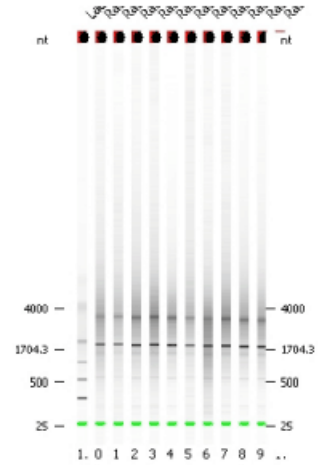
L'esempio seguente mostra la parte del "Riassunto d'analisi" di un report relativo ad un'analisi RNA del report.

BioSizing_mRNA-Pico_00000_2003-06-27_12-50-03.xad Page 1 of 17

Assay: Demo mRNA Pico Read: 6/27/2003 12:50:03 PM

Data Path: P:\\BioSizing_mRNA-Pico_00000_2003-06-27_12-50-03.xad Modified: 8/19/2003 8:16:50 AM

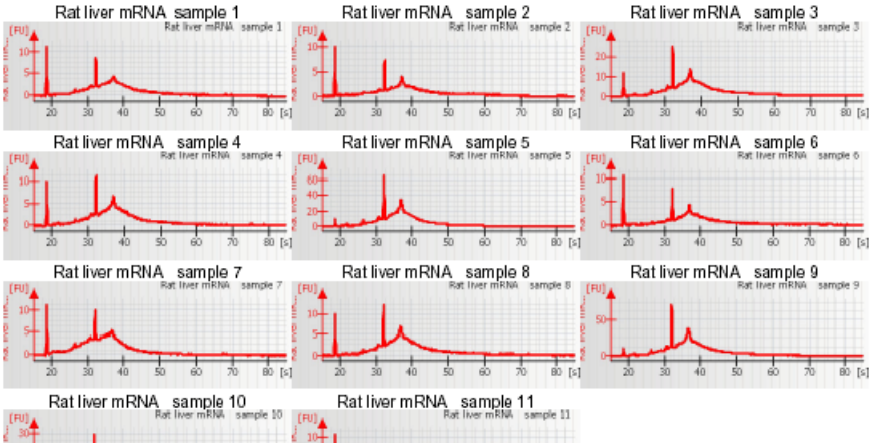
Molecular file run summary



Instrument :

Assay:	Label7
Title:	Label11
Version:	Label12
Comments:	Label10
Ladder Concentration:	Label20
Min Peak Height:	Label28
Slope Threshold:	Label29
Min. Peak Width:	Label30
Start Time:	Label34
End Time:	Label35
Notes:	Label36

Baseline:	Label18
Filter Width:	Label45
Baseline Plateau:	Label46
Polynomial Order:	Label47


Rat liver mRNA sample 1
Rat liver mRNA sample 2
Rat liver mRNA sample 3
Rat liver mRNA sample 4
Rat liver mRNA sample 5
Rat liver mRNA sample 6
Rat liver mRNA sample 7
Rat liver mRNA sample 8
Rat liver mRNA sample 9
Rat liver mRNA sample 10
Rat liver mRNA sample 11
[FU]
[s]

Come attivare e configurare la stampa automatica dei report d'analisi del chip

Un report può essere stampato (o generato) automaticamente al termine di ogni analisi del chip.

Per abilitare e configurare la stampa automatica:

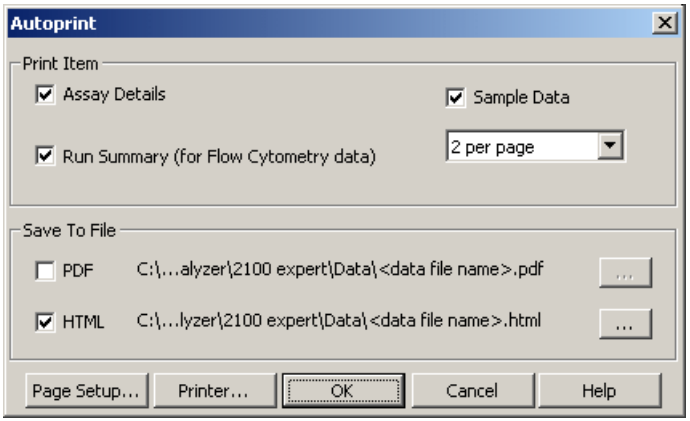
1. Nel menu *Tools* (Strumenti) selezionare *Options...* (Opzioni).

   Viene visualizzata la finestra di dialogo *Options* (Opzioni).

2. Fare clic sulla scheda *Advanced* (Avanzate) per portarla in primo piano.

3. Selezionare la casella di controllo *Auto Print* (Stampa automatica), quindi fare clic sul pulsante *Settings...* accanto alla casella di controllo.

   Viene visualizzata la finestra di dialogo *Auto Print* (Stampa automatica).



NOTA

Le impostazioni di *Auto Print* (Stampa automatica) sono indipendenti rispetto a quelle effettuate tramite il comando *Print...* (Stampa) del menu *File* (vedere le sezioni *"Print (Stampa) (Elettroforesi)" a pagina 622* e *"Print (Stampa) (Citometria a flusso)" a pagina 618*).

4 Regolare le impostazioni:

- In *Print Item* (Stampa voce) selezionare l'opzione che deve essere contenuta nel report.
- In *Save To File* (Salva su file) è possibile reindirizzare le stampe automatiche a file .pdf e .html.

  Se si selezionano le opzioni *PDF* e/o *HTML* non verrà effettuata alcuna stampa.
- Utilizzare i pulsanti *Page Setup...* (Impostazione pagina) e *Printer...* (Stampante) per aprire le finestre di dialogo del sistema, che consentono di selezionare una stampante per la stampa automatica e di specificare il supporto di stampa ed il layout della pagina.

Per dettagli relativi alle opzioni disponibili, vedere la sezione "Auto Print (Stampa automatica)" a pagina 633.

5 Fare clic su *OK* per confermare le impostazioni di stampa automatica.

6 Fare clic su *OK* per abilitare la stampa automatica e chiudere la finestra di dialogo *Options* (Opzioni).

Configurazioni tabelle

2100 expert utilizza diverse tabelle per presentare i dati:

- Tabelle dei risultati
- Tabelle dei picchi
- Tabelle dei frammenti
- Tabelle di registro

In alcuni casi, può essere necessario riorganizzare la modalità di visualizzazione dei dati. Ad esempio, nascondere o mostrare le colonne, modificare la sequenza delle colonne ed adattare l'altezza della tabella.

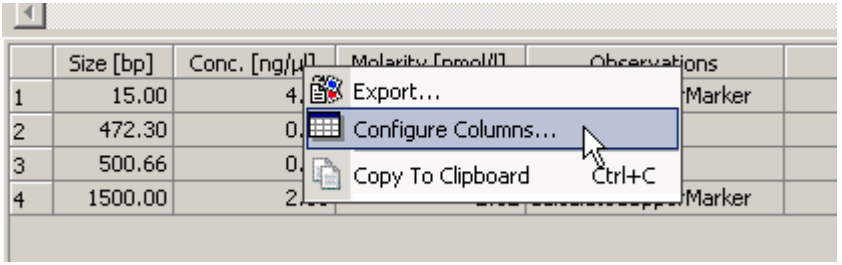
	Area	FragmentSize	Concentration	Molarity	Observations
1	50.29	15.00	4.20	424.24	CalculatedLowerMarker
2	29.49	472.30	0.76	2.45	
3	13.40	500.66	0.34	1.03	
4	84.13	1500.00	2.10	2.12	CalculatedUpperMarker

L'esempio seguente dimostra come aggiungere il tempo di migrazione alla *Peak Table* (Tabella dei picchi).

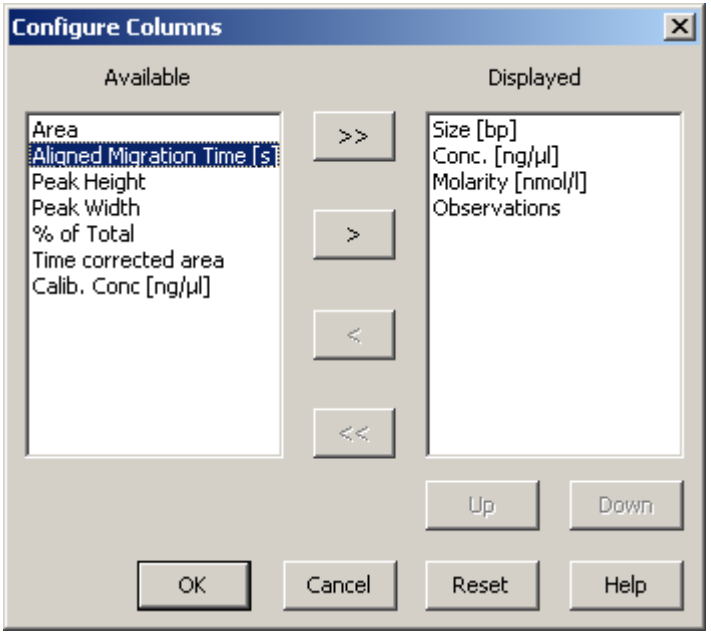
Mostrare e nascondere le colonne

Per aggiungere la colonna *Aligned Migration Time* (Tempo di migrazione allineato) alla tabella:

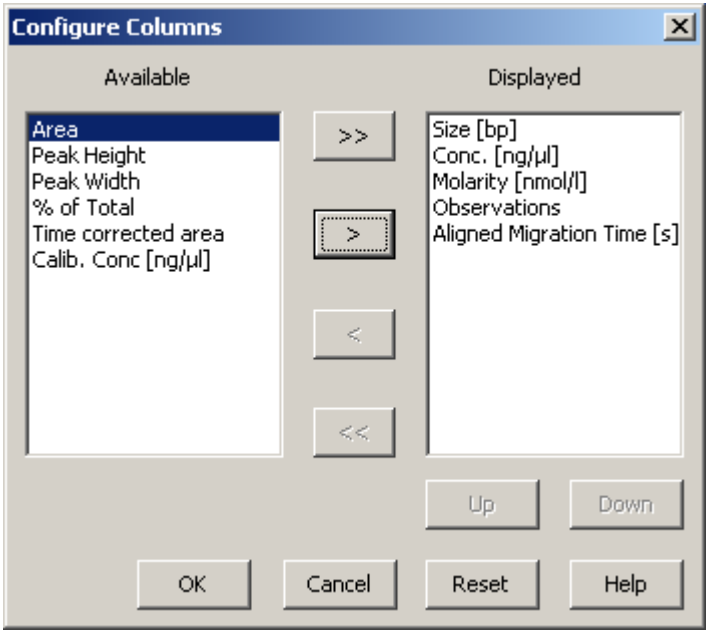
1 Fare clic con il pulsante destro sulla riga d'intestazione della tabella.



2 Nel menu del contesto, selezionare *Configure Columns...* (Configura colonne) per visualizzare la finestra di dialogo *Configure Columns... (Configura colonne)*.



3 Spostare *Aligned Migration Time* (Tempo di migrazione allineato) dall'elenco *Available* (Disponibili) all'elenco *Displayed* (Visualizzate) facendo clic sul pulsante con la freccia singola.



4 Fare clic su *OK*.

Una nuova colonna, denominata *Aligned Migration Time* (Tempo di migrazione allineato) viene inserita nella tabella:

		Size [bp]	Conc. [ng/µl]	Molarity [nmol/l]	Observations	Aligned Migration Time [s]
1		15	4.20	424.2	Lower Marker	41.00
2		22	1.55	105.6		42.72
3		55	1.23	33.8		47.44
4		104	3.90	56.7		53.04

Per nascondere le colonne, rimuovere i loro nomi dall'elenco *Displayed* (Visualizzate) nella finestra di dialogo *Configure Columns... (Configura colonne)*.

Modifica della sequenza delle colonne

SUGGERIMENTO

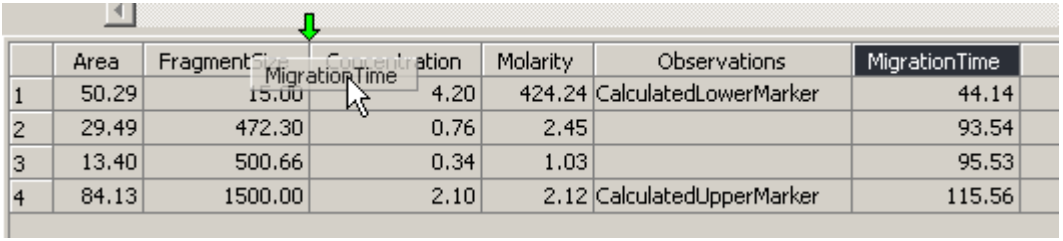
È possibile impostare la sequenza anche utilizzando i pulsanti *Up* (Su) e *Down* (Giù) sulla finestra di dialogo *Configure Columns... (Configura colonne)*.

Per modificare la sequenza delle colonne di una tabella:

1 Posizionare il puntatore del mouse sull'intestazione di una colonna.

2 Fare clic e tenere premuto il pulsante sinistro del mouse e trascinare l'intestazione della cella nella posizione desiderata.

Durante il trascinamento una freccia verde indica la posizione dell'obiettivo.



	Area	FragmentSize	Concentration	Molarity	Observations	MigrationTime
1	50.29	15.00	4.20	424.24	CalculatedLowerMarker	44.14
2	29.49	472.30	0.76	2.45		93.54
3	13.40	500.66	0.34	1.03		95.53
4	84.13	1500.00	2.10	2.12	CalculatedUpperMarker	115.56

3 Rilasciare il tasto del mouse.

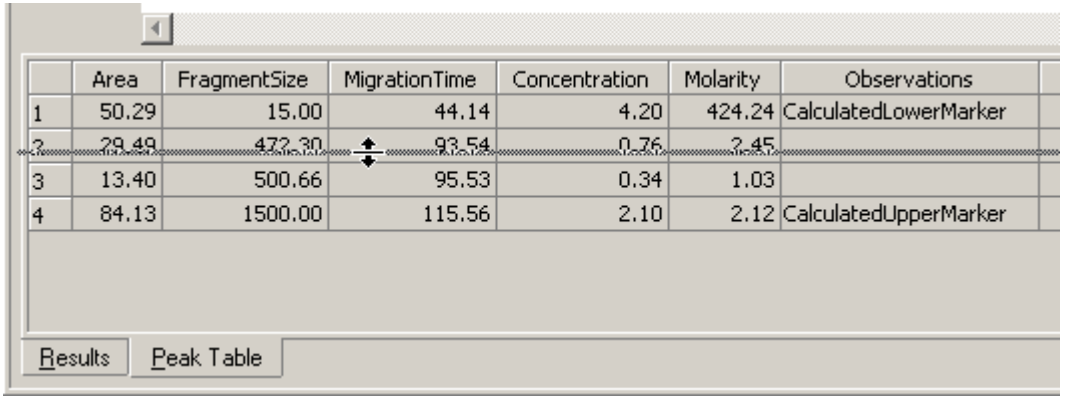
La colonna viene spostata nella sua nuova posizione:

	Area	FragmentSize	MigrationTime	Concentration	Molarity	Observations
1	50.29	15.00	44.14	4.20	424.24	CalculatedLowerMarker
2	29.49	472.30	93.54	0.76	2.45	
3	13.40	500.66	95.53	0.34	1.03	
4	84.13	1500.00	115.56	2.10	2.12	CalculatedUpperMarker

Modifica dell'altezza della tabella

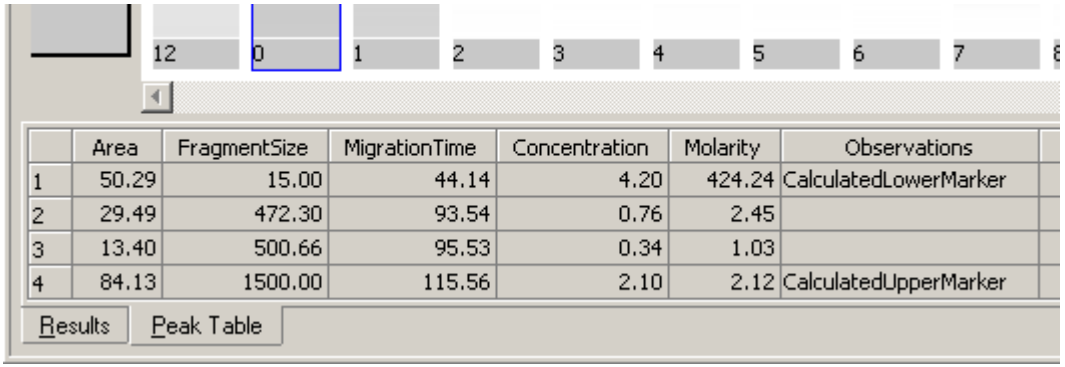
Per aumentare o diminuire l'altezza della tabella:

1. Posizionare il puntatore del mouse sulla riga d'intestazione della tabella fino a che la forma del cursore diventa una doppia freccia.
2. Fare clic e tenere premuto il pulsante sinistro del mouse trascinando in alto o in basso.


Area FragmentSize MigrationTime Concentration Molarity Observations
1 50.29 15.00 44.14 4.20 424.24 CalculatedLowerMarker
2 29.49 472.30 93.54 0.76 2.45
3 13.40 500.66 95.53 0.34 1.03
4 84.13 1500.00 115.56 2.10 2.12 CalculatedUpperMarker
Results
Peak Table

3. Rilasciare il tasto del mouse.

In questo esempio, la *Peak Table* (Tabella dei picchi) ha liberato spazio sullo schermo per l'immagine gel-simile sopra la tabella:


12 0 1 2 3 4 5 6 7
Area FragmentSize MigrationTime Concentration Molarity Observations
1 50.29 15.00 44.14 4.20 424.24 CalculatedLowerMarker
2 29.49 472.30 93.54 0.76 2.45
3 13.40 500.66 95.53 0.34 1.03
4 84.13 1500.00 115.56 2.10 2.12 CalculatedUpperMarker
Results
Peak Table

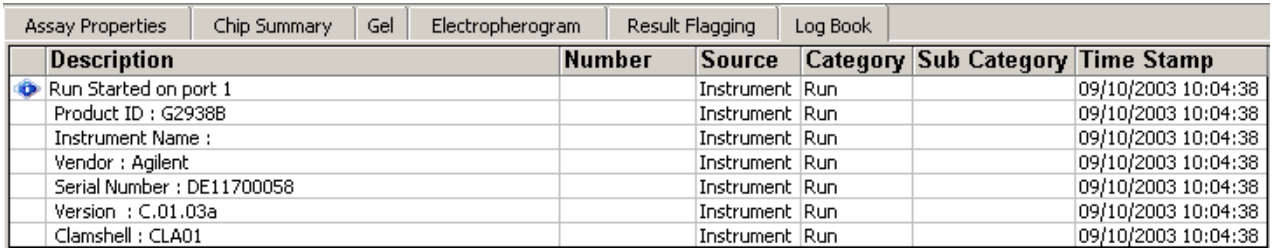
Lettura dei registri

2100 expert fornisce due registri.

Registro di analisi

La tabella del registro d'analisi contiene eventi generati durante un'analisi del chip, compresi il punto iniziale ed il punto finale e qualsiasi errore o problema avvenuto durante l'analisi.

La tabella del registro d'analisi è visibile nel contesto *Data and Assay* (Dati e analisi) selezionando la tabella *Log Book* (Registro)



Description	Number	Source	Category	Sub Category	Time Stamp
Run Started on port 1		Instrument	Run		09/10/2003 10:04:38
Product ID : G2938B		Instrument	Run		09/10/2003 10:04:38
Instrument Name :		Instrument	Run		09/10/2003 10:04:38
Vendor : Agilent		Instrument	Run		09/10/2003 10:04:38
Serial Number : DE11700058		Instrument	Run		09/10/2003 10:04:38
Version : C.01.03a		Instrument	Run		09/10/2003 10:04:38
Clamshell : CLA01		Instrument	Run		09/10/2003 10:04:38

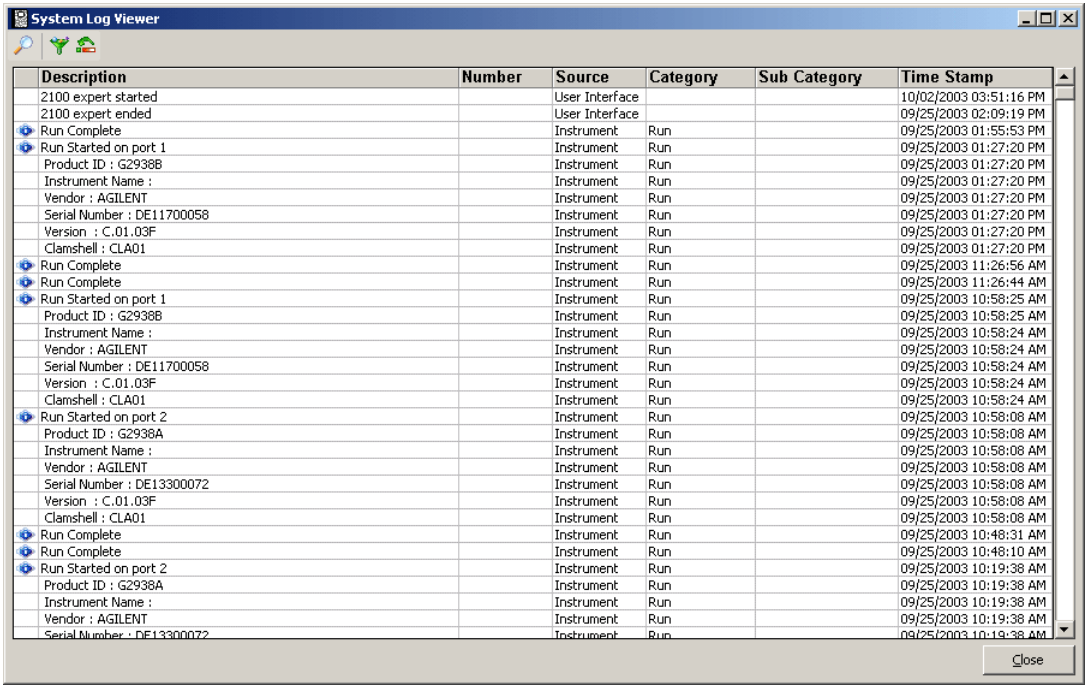
Vedere la sezione “Scheda Log Book (Registro)” a pagina 565 per ulteriori informazioni sulla tabella del registro d'analisi.

Il registro d'analisi viene salvato nel file di dati del chip (.xad) e non può essere cancellato.

Registro del sistema

La tabella *System Log* (Registro del sistema) comprende eventi di avvio e arresto del software 2100 expert, e, per esempio, errori e problemi relativi ai bioanalizzatori connessi.

La tabella di registro del sistema può essere visualizzata selezionando *System Log* (Registro sistema) nel menu *Tools* (Strumenti).



Description	Number	Source	Category	Sub Category	Time Stamp
2100 expert started		User Interface			10/02/2003 03:51:16 PM
2100 expert ended		User Interface			09/25/2003 02:09:19 PM
Run Complete		Instrument	Run		09/25/2003 01:55:53 PM
Run Started on port 1		Instrument	Run		09/25/2003 01:27:20 PM
Product ID : G2938B		Instrument	Run		09/25/2003 01:27:20 PM
Instrument Name :		Instrument	Run		09/25/2003 01:27:20 PM
Vendor : AGILENT		Instrument	Run		09/25/2003 01:27:20 PM
Serial Number : DE11700058		Instrument	Run		09/25/2003 01:27:20 PM
Version : C.01.03F		Instrument	Run		09/25/2003 01:27:20 PM
Clamshell : CLA01		Instrument	Run		09/25/2003 01:27:20 PM
Run Complete		Instrument	Run		09/25/2003 11:26:56 AM
Run Complete		Instrument	Run		09/25/2003 11:26:44 AM
Run Started on port 1		Instrument	Run		09/25/2003 10:58:25 AM
Product ID : G2938B		Instrument	Run		09/25/2003 10:58:25 AM
Instrument Name :		Instrument	Run		09/25/2003 10:58:24 AM
Vendor : AGILENT		Instrument	Run		09/25/2003 10:58:24 AM
Serial Number : DE11700058		Instrument	Run		09/25/2003 10:58:24 AM
Version : C.01.03F		Instrument	Run		09/25/2003 10:58:24 AM
Clamshell : CLA01		Instrument	Run		09/25/2003 10:58:24 AM
Run Started on port 2		Instrument	Run		09/25/2003 10:58:08 AM
Product ID : G2938A		Instrument	Run		09/25/2003 10:58:08 AM
Instrument Name :		Instrument	Run		09/25/2003 10:58:08 AM
Vendor : AGILENT		Instrument	Run		09/25/2003 10:58:08 AM
Serial Number : DE13300072		Instrument	Run		09/25/2003 10:58:08 AM
Version : C.01.03F		Instrument	Run		09/25/2003 10:58:08 AM
Clamshell : CLA01		Instrument	Run		09/25/2003 10:58:08 AM
Run Complete		Instrument	Run		09/25/2003 10:48:31 AM
Run Complete		Instrument	Run		09/25/2003 10:48:10 AM
Run Started on port 2		Instrument	Run		09/25/2003 10:19:38 AM
Product ID : G2938A		Instrument	Run		09/25/2003 10:19:38 AM
Instrument Name :		Instrument	Run		09/25/2003 10:19:38 AM
Vendor : AGILENT		Instrument	Run		09/25/2003 10:19:38 AM
Serial Number : DE13300072		Instrument	Run		09/25/2003 10:19:38 AM

Vedere la sezione “System Log Viewer (Visualizzatore del registro di sistema)” a pagina 656 per ulteriori informazioni sulla tabella del registro di sistema.

Il registro di sistema viene salvato nel file "SystemLogBook.log" situato nella sottodirectory "..\log". Il file di registro del sistema può diventare molto grande e occupare molto spazio utile del disco fisso. Per controllare lo spazio sul disco occupato dal file di registro del sistema, leggere la sezione “Come utilizzare le impostazioni avanzate” a pagina 352.

Come modificare la visualizzazione dei registri

Per ordinare una tabella di registro:

1. Fare clic con il pulsante destro su una qualsiasi colonna della tabella.
2. Nel menu del contesto, selezionare *Sort* (Ordina) per ordinare la tabella secondo la colonna attuale (ascendente).

   – OPPURE –

   Nel menu del contesto, selezionare *Sort by Event* (Ordina per evento) per ordinare la tabella secondo la colonna *Category* (Categoria) (ascendente).

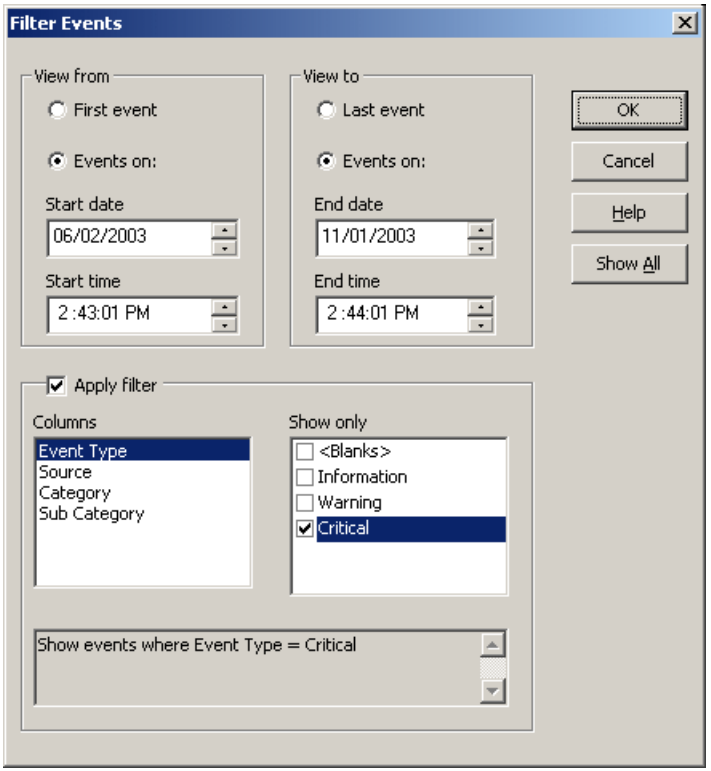
Per filtrare una tabella di registro:

1. Sulla barra degli strumenti *Log Book* (Registro) fare clic su *Filter*  (Filtro).

   Viene visualizzata la finestra di dialogo *Filter Events* (Filtra eventi).
2. Per visualizzare solo eventi relativi ad un determinato periodo di tempo, è possibile definire uno *Start Date/Time* (Data/ora d'inizio) ed un *End Date/Time* (Data/ora finale).
3. Per definire un filtro, selezionare la casella di controllo *Apply filter* (Applica filtro).

   A questo punto è possibile definire regole di filtrazione per le colonne *Event Type* (Tipo di evento), *Source* (Origine), *Category* (Categoria) e *Sub Category* (Sottocategoria). Effettuare una selezione sull'elenco *Columns* (Colonne) ed includere i valori selezionando le caselle di dialogo nell'elenco *Show only* (Mostra solo).

La definizione del filtro dell'esempio seguente può escludere tutti gli eventi provenienti dalla tabella del registro con un *Event Type* (Tipo di evento) diverso da *Critical* (Critico).



Per ulteriori informazioni, vedere la sezione "Scheda Log Book (Registro)" a pagina 565.

4 Fare clic su *OK* per applicare il filtro alla tabella del registro.

Per rimuovere il filtro dalla tabella del registro:

1 Sulla barra degli strumenti *Log Book* (Registro) fare clic su *Reset* (Azzera).

SUGGERIMENTO

Per nascondere/visualizzare le colonne della tabella del registro e disporle in un nuovo ordine, fare clic con il pulsante destro del mouse su *Columns...* (Colonne) nel menu del contesto. Vedere la sezione "Configurazioni tabelle" a pagina 330.

Come effettuare ricerche nel registro

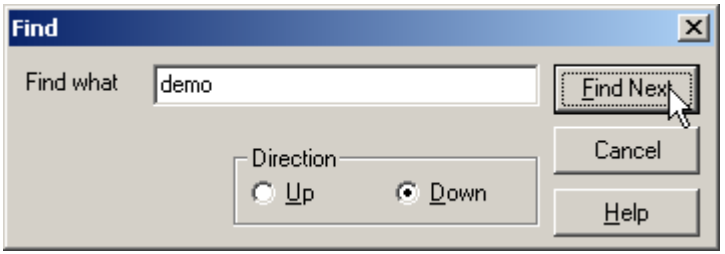
È possibile ricercare una qualsiasi stringa nel *Run Log* (Registro d'analisi) e nel *System Log* (Registro di sistema). La procedura è illustrata di seguito, utilizzando l'esempio del *Run Log* (Registro di analisi).

Per effettuare ricerche nel *Log Book* (Registro):

1 Sulla barra degli strumenti *Log Book* (Registro), fare clic su *Find* (Cerca).

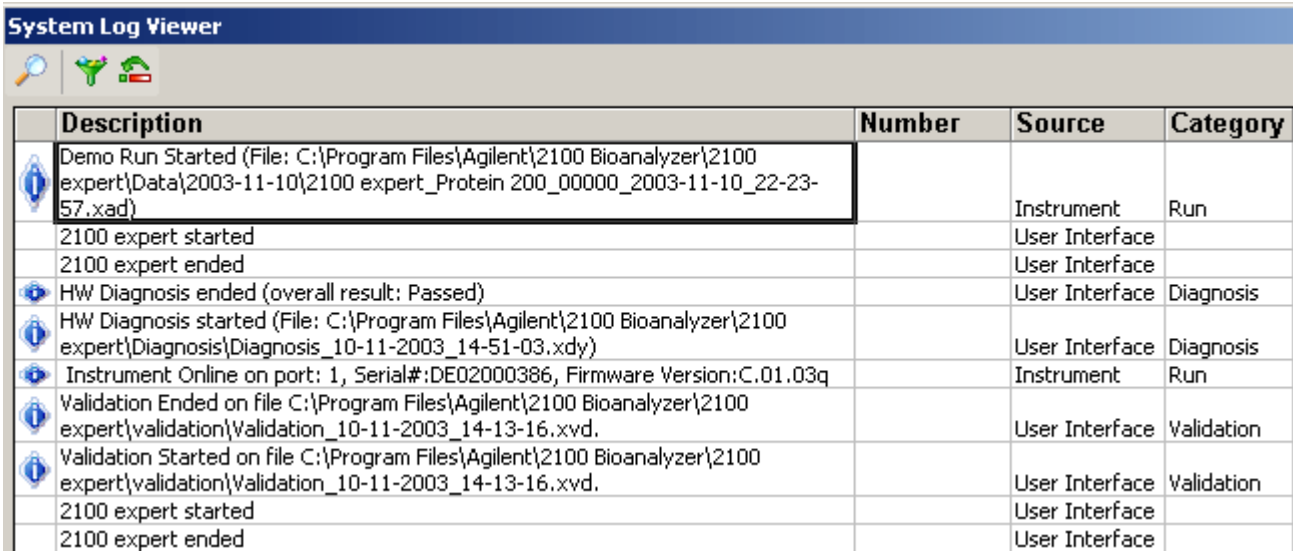
Viene visualizzata la finestra di dialogo *Find* (Cerca).

2 Inserire una stringa di ricerca e selezionare la *Direction* (Direzione) della ricerca.



3 Fare clic su *Find Next* (Trova successivo).

Se la stringa di ricerca è stata trovata nella cella di una tabella, la cella viene evidenziata:



NOTA

La ricerca *non* distingue tra lettere minuscole e maiuscole.

4 Per continuare la ricerca, fare clic su *Find Next* (Trova successivo).

Configurazione di 2100 Expert

Il software 2100 expert può essere configurato come descritto di seguito.

- I nomi dei file di dati possono essere generati automaticamente. Per ulteriori informazioni sulla modalità di assegnazione dei nomi, vedere la sezione "Come specificare i nomi e le directory dei file di dati" a pagina 345.
- Al termine dell'analisi di un chip, è necessario rimuovere il chip dal bioanalizzatore. È possibile attivare un avvisatore acustico che segnali quando effettuare questa operazione. Per ulteriori informazioni, vedere la sezione "Come impostare un segnale di avviso acustico" a pagina 348.
- Nella valutazione dei dati la sovrapposizione di elettroferogrammi ed istogrammi ha un ruolo importante. Vedere la sezione "Come specificare le impostazioni grafiche" a pagina 350 per informazioni su come specificare i colori per i singoli campioni.
- Operazioni come la stampa e l'esportazione dei dati, oltre all'avvio dell'analisi del chip, possono essere automatizzate. Per informazioni su come abilitare le funzioni automatiche di stampa, esportazione ed avvio, vedere la sezione "Come utilizzare le impostazioni avanzate" a pagina 352.

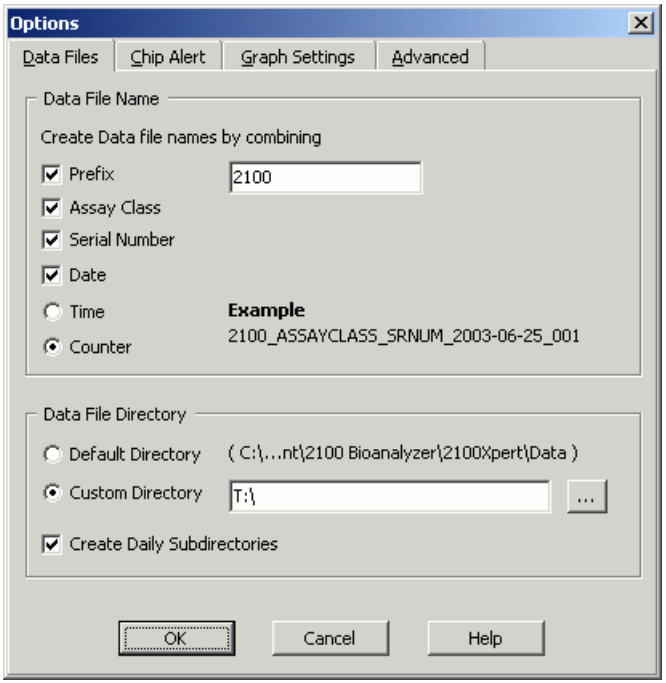
Come specificare i nomi e le directory dei file di dati

I risultati delle analisi vengono salvati automaticamente al termine dell'analisi del chip. Per semplificare l'identificazione dei file di dati del chip, è possibile configurare uno schema automatico di denominazione dei file.

Per specificare i nomi e la destinazione dei file di dati del chip che vengono generati:

1 Selezionare *Tools* > *Options...* (Strumenti > Opzioni).

Viene visualizzata la finestra di dialogo *Options* (Opzioni) con la scheda *Data Files* (File di dati) in primo piano.



2 Selezionare le caselle di controllo delle stringhe che si desidera inserire nei nomi dei file:

Opzione	Significato
Prefix (Prefisso)	Inserisce un'annotazione per identificare il file di dati. La stringa può essere modificata. Il prefisso predefinito per i file è “2100 expert”.
Assay Class (Classe dell'analisi)	Inserisce la classe dell'analisi. Esempi: “DNA1000”, “GFP”, “Apoptosis”.
Serial Number (Numero di serie)	Inserisce il numero di serie del bioanalizzatore Agilent 2100 utilizzato per l'analisi del chip.
Date (Data)	Inserisce la data in cui è stata effettuata l'analisi del chip.
Time/Counter (Data e ora/contatore)	Inserisce l'ora in cui viene effettuata l'analisi del chip/inserisce un numero a 3 cifre ad incremento automatico.

Per specificare la directory in cui i file di dati del chip devono essere salvati:

1 Selezionare *Default Directory* (Directory predefinita) per utilizzare la directory “..\Data” sotto la directory d'installazione di 2100 expert , oppure selezionare *Custom Directory* (Directory personale) per specificare un'altra directory.

2 Selezionare la casella di controllo *Create Daily Subdirectories* (Crea sottodirectory giornaliere) per impostare la creazione di sottodirectory giornaliere.

   Questa opzione consente di organizzare al meglio i file di dati dei chip. Se viene selezionata questa opzione, tutte le volte che viene effettuata l'analisi di un chip, il sistema crea nella directory di destinazione una sottodirectory chiamata “AAAA-MM-GG”, per esempio “..\2003-08-22“. Tutti i file di dati del chip generati nel giorno specificato vengono salvati in questa sottodirectory.

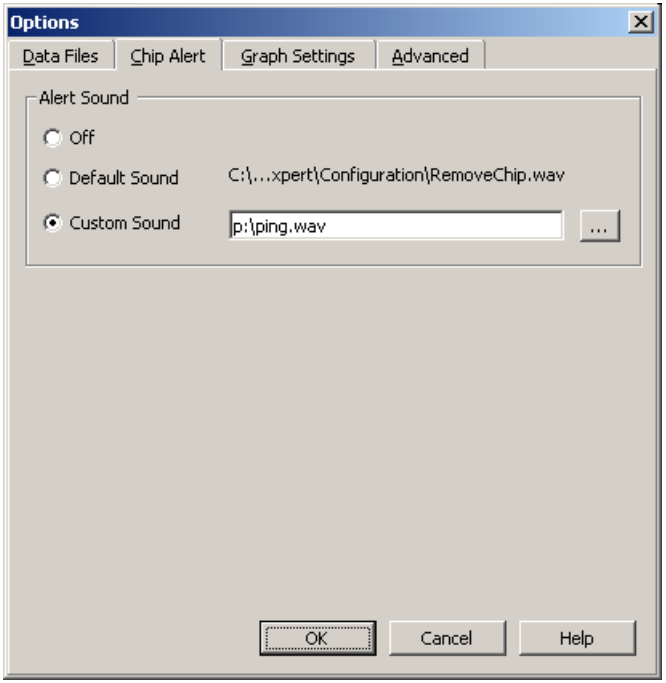
3 Fare clic su *OK* per confermare le modifiche.

Come impostare un segnale di avviso acustico

Al termine dell'analisi di un chip, è necessario rimuovere il chip dal bioanalizzatore.
È possibile attivare un avviso acustico che segnala quando effettuare questa operazione.

Per impostare un segnale di avviso acustico:

1. Selezionare *Tools* > *Options...* (Strumenti > Opzioni) per visualizzare la finestra di dialogo *Options* (Opzioni).
2. Fare clic sulla scheda *Chip Alert* (Avviso chip) per portarla in primo piano.



3 Selezionare *Off* (Spento) per disattivare l'avviso acustico.

– OPPURE –

Selezionare *Default sound* (Suono predefinito) per utilizzare l'avviso acustico standard.

– OPPURE –

Selezionare *Custom Sound* (Suono personalizzato) per specificare un file .wav da utilizzare come avviso acustico.

4 Fare clic su *Play* (Esegui) per ascoltare l'avviso acustico.

5 Utilizzare il cursore scorrevole *Alert interval* (Intervallo di avviso) per specificare l'intervallo di tempo dopo cui l'avviso deve essere attivato.

L'intervallo può essere impostato su un valore compreso tra 1 e 15 secondi.

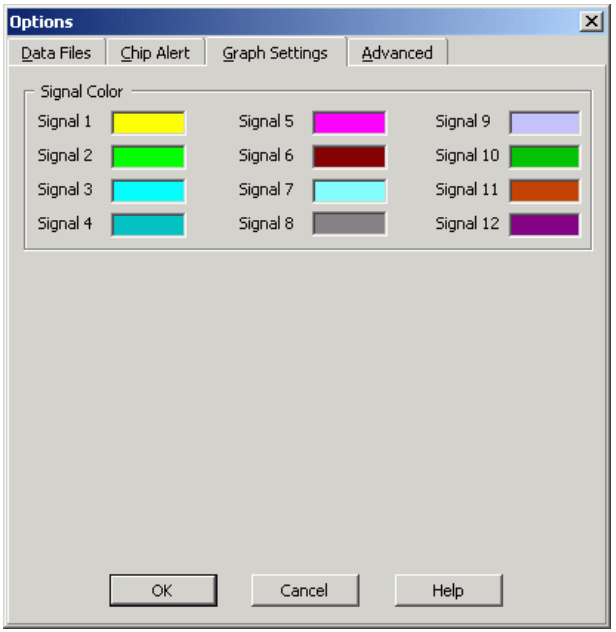
6 Fare clic su *OK* per confermare le modifiche.

Come specificare le impostazioni grafiche

I risultati delle misurazioni dei campioni possono essere confrontati sovrapponendo i relativi elettroferogrammi o istogrammi. Per ottimizzare la visualizzazione ottimale, è possibile configurare i colori delle curve e regolare la scala nei grafici sovrapposti.

Per modificare le impostazioni grafiche:

1. Selezionare *Tools* > *Options...* (Strumenti > Opzioni) per visualizzare la finestra di dialogo *Options* (Opzioni).
2. Fare clic sulla scheda *Graph Settings* (Impostazioni grafiche) per portarla in primo piano.



3 Fare clic sui rettangoli colorati a destra dei segnali.

A questo punto è possibile scegliere un nuovo colore nella finestra di dialogo *Color* (Colore).

Come utilizzare le impostazioni avanzate

Le impostazioni avanzate di 2100 expert possono essere utilizzate per:

- Avviare, documentare ed archiviare automaticamente le analisi dei chip.

  È particolarmente utile attivare le funzioni *Auto Run* (Avvio automatico) *Auto Print* (Stampa automatica) *Auto Export* (Esportazione automatica) per eseguire in serie più prove della stessa analisi.

- Impostare i limiti di spazio sul disco per il salvataggio dei dati.

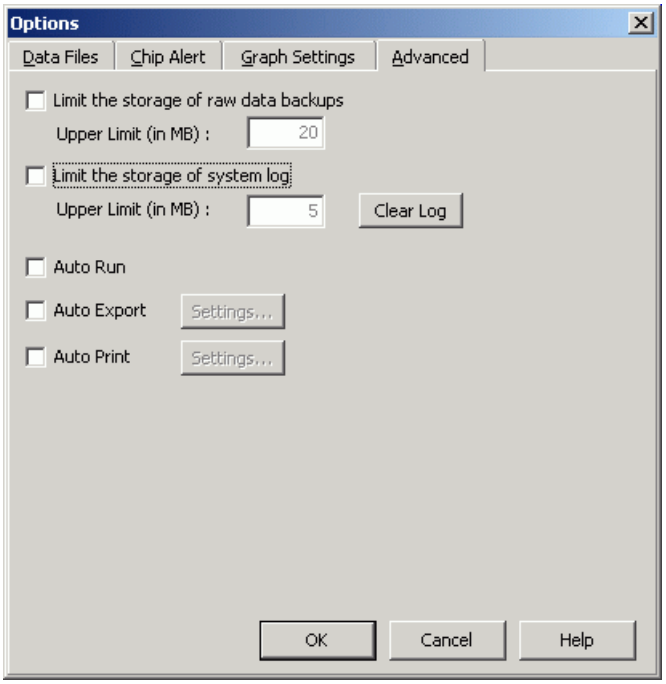
  La limitazione dello spazio sul disco per i dati grezzi e per i file di registro evita l'overflow di dati se si esegue un numero elevato di analisi dei chip.

- Specificare le regole di correzione per i dati dell'analisi elettroforetica.

Per modificare le impostazioni avanzate:

1 Selezionare *Tools* > *Options...* (Strumenti > Opzioni) per visualizzare la finestra di dialogo *Options* (Opzioni).

2 Fare clic sulla scheda *Advanced* (Avanzate) per portarla in primo piano.



3 Selezionare *Limit the storage of raw data backups ...* (Limita lo spazio per i backup dei dati grezzi) ed immettere un limite massimo in MB per limitare lo spazio occupato su disco dai file pacchetto.

20 MB (~ 20 analisi dei chip) è il valore predefinito.

NOTA

Oltre ai normali file di dati del chip (.xad), 2100 expert crea un altro file di backup dei dati grezzi (file pacchetto: .pck) per ogni analisi del chip. La dimensione tipica di un file pacchetto è 1 MB. Questo file viene salvato nella cartella "..\data\packets" della directory d'installazione. È possibile impostare i limiti per lo spazio sul disco da utilizzare per i file pacchetto. Se questo limite viene superato, il file o i file più vecchi saranno cancellati per liberare spazio sul disco.

4 Selezionare la casella di controllo *Limit the storage of system log* (Limita la memorizzazione del registro di sistema) per limitare lo spazio sul disco per il file di registro del sistema "SystemLogBook.log" (situato nella sottodirectory "..\log") ed inserire un limite massimo in MB.

Se il limite viene superato, viene visualizzato un messaggio che chiede di eliminare o spostare il file di registro per liberare spazio sul disco.

5 Selezionare *Auto Run* (Esecuzione automatica) per attivare l'avvio automatico dell'analisi di un chip quando il coperchio del bioanalizzatore Agilent 2100 viene chiuso e viene rilevata la presenza di un chip adatto per il tipo di analisi selezionato.

6 Selezionare *Auto Export* (Esportazione automatica) per abilitare l'opzione pulsante *Settings...* (Impostazioni).

Quindi, fare clic su *Settings...* (Impostazioni) per visualizzare la finestra di dialogo *Auto Export* (Esportazione automatica) che consente di configurare le impostazioni di esportazione automatica (vedere la sezione "Auto Export (Esportazione automatica)" a pagina 611).

7 Selezionare *Auto Print* (Stampa automatica) per abilitare l'opzione .

Quindi, fare clic su *Settings...* (Impostazioni) per visualizzare la finestra di dialogo *Auto Print* (Stampa automatica) che consente di impostare le opzioni di stampa automatica (vedere la sezione "Auto Print (Stampa automatica)" a pagina 633).

NOTA

Le impostazioni di *Auto Print* (Stampa automatica) e *Auto Export* (Esportazione automatica) sono indipendenti rispetto a quelle che possono essere selezionate il comando *Export* (Esporta) o *Print* (Stampa) del menu *File*.

---

8 Fare clic su *OK* per confermare le modifiche.

Esecuzione della diagnostica dello strumento

2100 expert fornisce numerosi test che consentono di verificare il corretto funzionamento dell'hardware del bioanalizzatore. I test possono essere eseguiti ad intervalli regolari oppure solo quando si verifica una situazione anomala.

I test disponibili sono i seguenti:

- Test generici per il bioanalizzatore, che possono essere eseguiti con entrambi i tipi di cartuccia (cartuccia ad elettrodo o a pressione)
- Bioanalizzatore in combinazione con cartuccia ad elettrodo (impostazione per elettroforesi)
- Bioanalizzatore in combinazione con cartuccia a pressione (impostazione per citometria a flusso)

Test generici per il bioanalizzatore

Test diagnostici	Scopo
Electronics Test (Test dell'elettronica)	Verifica il funzionamento corretto di tutte le schede elettroniche del bioanalizzatore.
Lid Sensor Test (Test del sensore del coperchio)	Verifica il corretto funzionamento del sensore del coperchio e controlla che il laser ed il LED siano spenti quando il coperchio è aperto.

Test diagnostici	Scopo
Stepper Motor Test (Test del motore a passo)	Controlla che il motore a passo esegua il movimento corretto.
Fan Test (Test ventola)	Controlla che la ventola ruoti alla velocità corretta.
Temperatura Test (Test della temperatura)	Verifica che la velocità della rampa di salita della temperatura della piastra riscaldante sia entro le specifiche.

Electrode Cartridge Tests (Test della cartuccia a elettrodo)

Test diagnostici	Scopo
Current Leakage Test (Test della dispersione di corrente)	Misura la dispersione di corrente tra i piedini della cartuccia ad elettrodo. Per effettuare questo test è necessario il chip per il test della dispersione di corrente. Per la corretta preparazione del Chip test della dispersione di corrente, fare riferimento alla nota tecnica inclusa nel pacchetto Chip test.
Short Circuit Test (Test del corto circuito)	Controlla le dispersioni di corrente dello strumento utilizzando un chip vuoto. Nota: i limiti di questo test prevedono una temperatura ambiente di 25°C ed una umidità relativa inferiore o pari al 60 %. Valori di temperature o umidità relativa più elevati possono portare a dispersione di corrente.

Test diagnostici	Scopo
Optics Test (Test dell'ottica)	Verifica il corretto allineamento dell'ottica interna ed il funzionamento corretto del laser e del LED.
High Voltage Stability Test (Test di stabilità ad alto voltaggio)	Controlla l'accuratezza e la stabilità a voltaggio elevato di tutte le 16 alimentazioni ad alto voltaggio. È richiesto un chip inutilizzato (DNA, RNA, o proteine).
High Voltage Accuracy Test (Test di accuratezza ad alto voltaggio)	Verifica dei controlli dell'alto voltaggio.
High Voltage Accuracy on Load (Test accuratezza alto voltaggio sotto carico)	Controllo del diodo di riferimento del canale nella direzione di trasmissione.
Autofocus Test (Test di focalizzazione automatica)	Controlla la capacità di focalizzazione del sistema ottico. Per effettuare questo test, è necessario il Chip test di focalizzazione automatica.
Laser Stability Test (Test di stabilità del laser)	Misurazione della stabilità del segnale rosso del laser.
Electrode/Diode Test (Test dell'elettrodo/diodo)	Controlla il fotodiodo e le prestazioni corrente-verso-voltaggio del bioanalizzatore. Per effettuare questo test, è necessario il Chip test dell'elettrodo/diodo.

Pressure Cartridge Test (Test della cartuccia a pressione)

Test diagnostici	Scopo
Pressure Offset Test (Test di deviazione della pressione)	Il sistema per il vuoto della cartuccia a pressione è costituito da una pompa e dai tubi corrispondenti. Questo test calibra a zero i sensori della pressione.
Pressure Control Test (Test di controllo della pressione)	Verifica se il bioanalizzatore è in grado di mantenere la pressione operativa di -140 mbar. Durante il test la pompa rimane attiva, mentre il sistema tenta di regolare la pressione a -140 mbar. Per effettuare questo test, è necessario il Chip test di focalizzazione cellulare automatica.
System Leakage Test (Test di tenuta del sistema)	Verifica che il bioanalizzatore sia in grado di mantenere il vuoto. Produce una pressione di -100 mbar e controlla le variazioni. Per effettuare questo test, è necessario il Chip test di focalizzazione cellulare automatica.
Cell Autofocus Test (Test di focalizzazione cellulare automatica)	Controlla che il sistema ottico del bioanalizzatore sia calibrato correttamente. Per effettuare questo test, è necessario il chip per il test di focalizzazione cellulare automatica.

NOTA

Con il bioanalizzatore modello G2938A possono essere eseguiti solo i test in combinazione con la cartuccia ad elettrodo.

Chip test

In base al settaggio del bioanalizzatore (elettroforesi o citometria a flusso), per poter eseguire alcuni test diagnostici sono necessari particolari tipi di chip. I kit di chip per il bioanalizzatore sono inclusi nel set per elettroforesi (G2947CA) e del set per la citometria a flusso (G2948CA) del bioanalizzatore:

Kit di chip di test relativi all'analisi elettroforetica (codice per il riordino G2938-68100)

Tipo di chip	Commento	Quantità
Chip test di focalizzazione automatica	I valori di fluorescenza e offset sono riportati sul chip. Può essere utilizzato più volte.	1
Chip test dell'elettrodo/ diodo.	Può essere utilizzato più volte.	1
Chip test della dispersione di corrente.	Deve essere preparato con acqua deionizzata. Può essere utilizzato solo una volta.	5

Kit di chip di test relativi all'analisi citometrica a flusso (codice per il riordino G2938-68200)

Tipo di chip	Commento	Quantità
Chip test di focalizzazione cellulare.	Richiesto per i test di controllo della pressione, di tenuta del sistema e di verifica del sistema ottico. Può essere utilizzato più volte.	1

Come effettuare i test diagnostici dello strumento

NOTA

I test diagnostici non possono essere effettuati mentre il software 2100 expert sta eseguendo l'analisi di un chip.

Per effettuare un test diagnostico dello strumento:

1. Sul menu *Context* (Contesto), selezionare *Instrument* (Strumento).
2. Sul *Pannello della struttura ad albero*, selezionare il bioanalizzatore su cui si desidera effettuare il test.
3. Selezionare la scheda *Diagnostics* (Diagnostica).

   Tutti i test disponibili vengono visualizzati nell'elenco *Available Tests* (Test disponibili). I test disponibili variano a seconda del tipo di cartuccia installata sul bioanalizzatore (vedere la sezione "Come passare dall'analisi elettroforetica all'analisi citometrica a flusso e viceversa" a pagina 52).

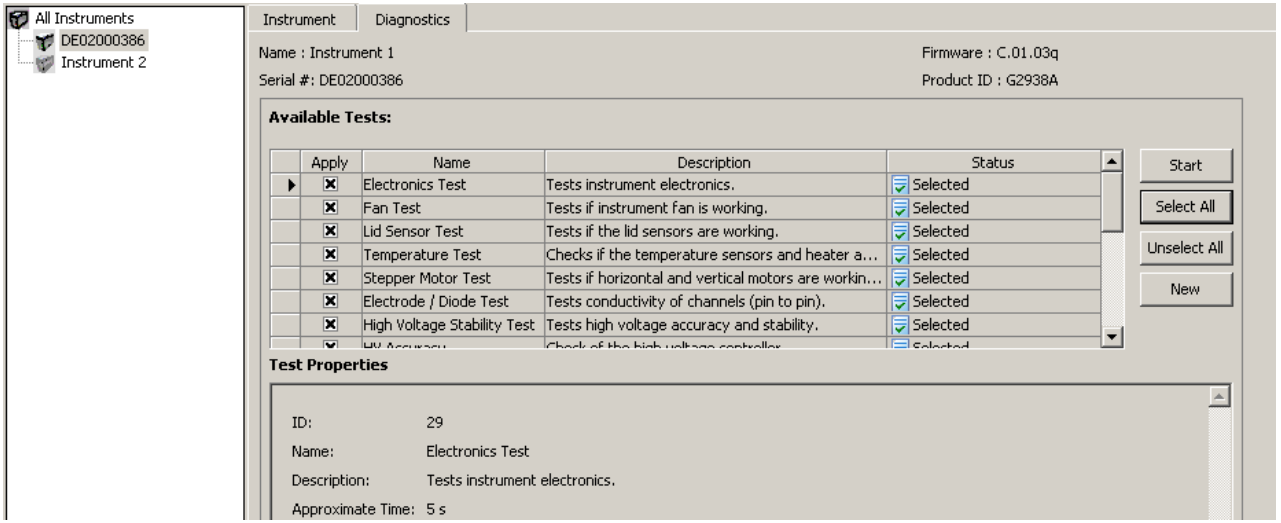
   Quando viene rilevata la presenza di una cartuccia non adatta all'analisi che si desidera eseguire, il software 2100 expert genera un messaggio di errore. Per eseguire il test selezionato inserire il tipo di cartuccia richiesto (vedere la sezione "Come passare dall'analisi elettroforetica all'analisi citometrica a flusso e viceversa" a pagina 52).

NOTA

I test diagnostici possono essere effettuati solo se il bioanalizzatore è acceso. In modalità non in linea, la scheda *Diagnostics* (Diagnostica) del contesto *Instrument* (Strumento) è disabilitata.

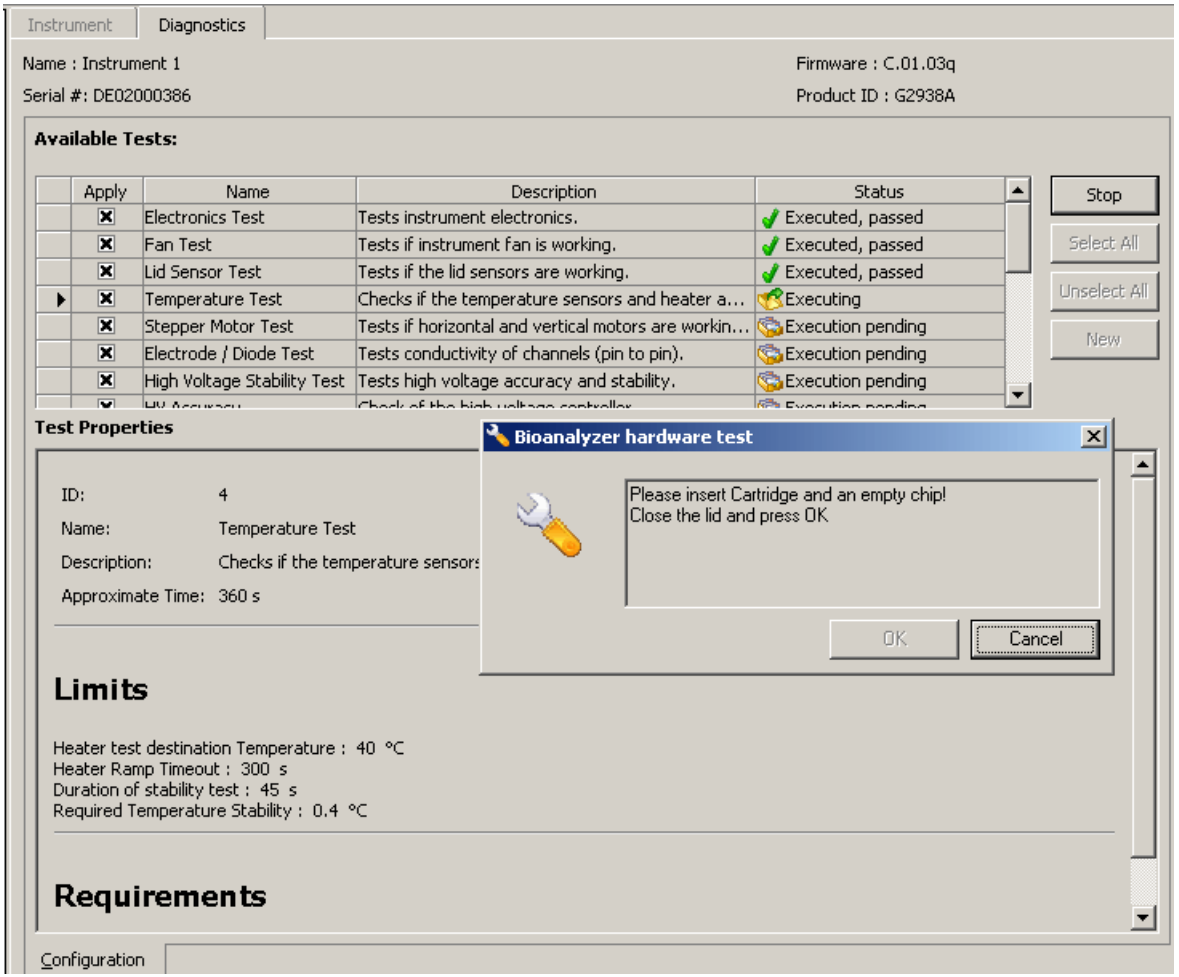
4 Selezionare il test che si desidera eseguire:

- Selezionare la casella di controllo *Apply* (Applica) per scegliere i singoli test.
- Fare clic su *Select All* (Seleziona tutti) per selezionare tutti i test disponibili.
- Fare clic su *Unselect All* (Deseleziona tutti) per deselezionare tutti i test disponibili.



5 Fare clic su *Start* (Avvio).

6 Seguire le istruzioni visualizzate dal software 2100 expert. Per esempio, sostituire la cartuccia o inserire un Chip test nell'alloggiamento del bioanalizzatore appena il software lo richiede.



Vengono eseguiti tutti i test selezionati.

La colonna *Status* (Stato) indica lo stato di ogni test:

- *Executing* (In esecuzione)
- *Execution pending* (In attesa di esecuzione)
- *Executed, passed* (Eseguito, passato)
- *Executed, failed* (Eseguito, fallito)

7 Se il test non viene completato correttamente, è necessario ripeterlo.

8 Se il problema persiste, contattare il Servizio di assistenza Agilent.

I risultati dei test diagnostici vengono memorizzati in file .xdy, nella cartella d'installazione di 2100 expert sotto "..\diagnosis". Se il test fallisce, è necessario inviare i file .xdy al Servizio di assistenza Agilent.

Esecuzione delle qualificazioni

Per essere certi che il sistema bioanalizzatore Agilent 2100 sia validato, è necessario eseguire numerose opzioni di qualificazione a livello d'installazione e funzionamento.

2100 expert fornisce test di qualificazione *dell'installazione* (IQ) e di qualificazione funzionale (OQ) relativi sia al software che all'hardware del bioanalizzatore. Ogni qualificazione è costituita da una serie di test e misurazioni che possono essere eseguite e documentate nel contesto *Validazione* del software 2100 expert.

Qualificazione dell'installazione

La qualificazione dell'installazione comprende test atti a verificare che il software e l'hardware del bioanalizzatore siano installati correttamente e che le connessioni elettriche e pneumatiche siano stati eseguite idoneamente.

La qualificazione dell'installazione può essere eseguita una volta, successivamente all'installazione.

Qualificazione funzionale

La qualificazione funzionale verifica che il sistema del bioanalizzatore sia adatto per lo scopo prefissato, cioè, che funzioni secondo le sue specifiche operative nell'ambiente selezionato.

La qualificazione operativa deve essere eseguita:

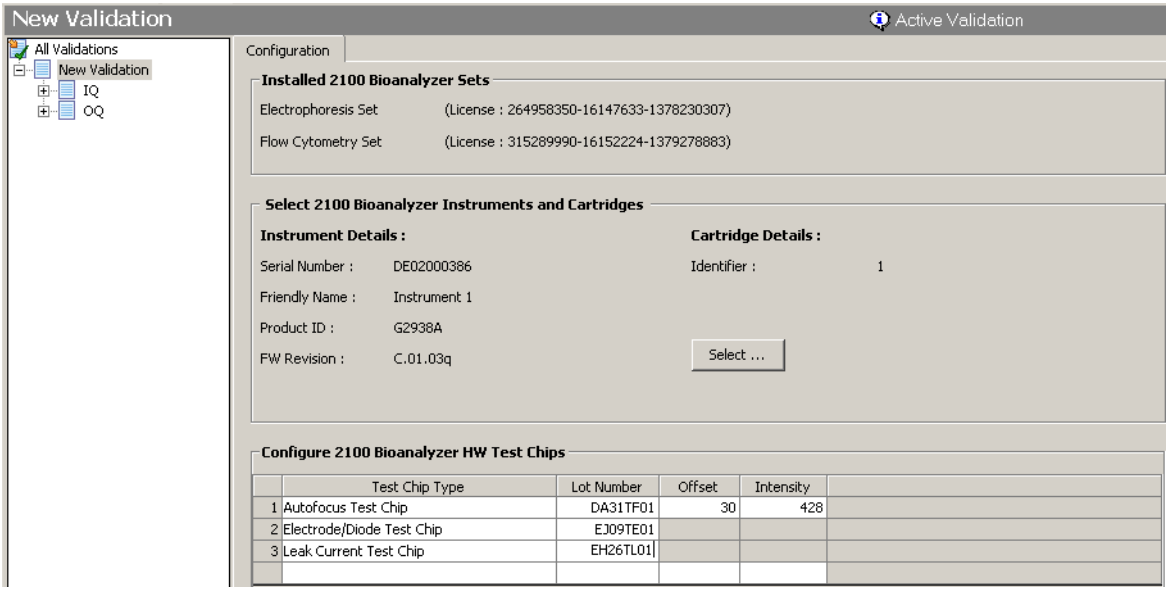
- Al primo utilizzo dello strumento
- Dopo il trasferimento dello strumento
- Dopo aver sostituito parti essenziali del sistema, per esempio aggiornamenti del software o sostituzione della cartuccia
- Dopo la riparazione dello strumento
- Ad intervalli regolari

Procedure di validazione

Per eseguire i test di validazione:

1. Passare al contesto *Validation* (Validazione).
2. Nel menu *File*, selezionare *New* (Nuovo).
3. Il *Pannello della struttura ad albero* visualizza la voce *New Validation* (Nuova validazione).
4. In *Cartridge Details* (Dettagli cartuccia) fare clic su *Select...* (Seleziona) e specificare le caratteristiche della cartuccia attualmente installata nel bioanalizzatore.

5 In *Configure 2100 Bioanalyzer HW Test Chips* (Configura i Chip test HW del Bioanalyzer 2100) inserire i chip test che si desidera utilizzare per la validazione:

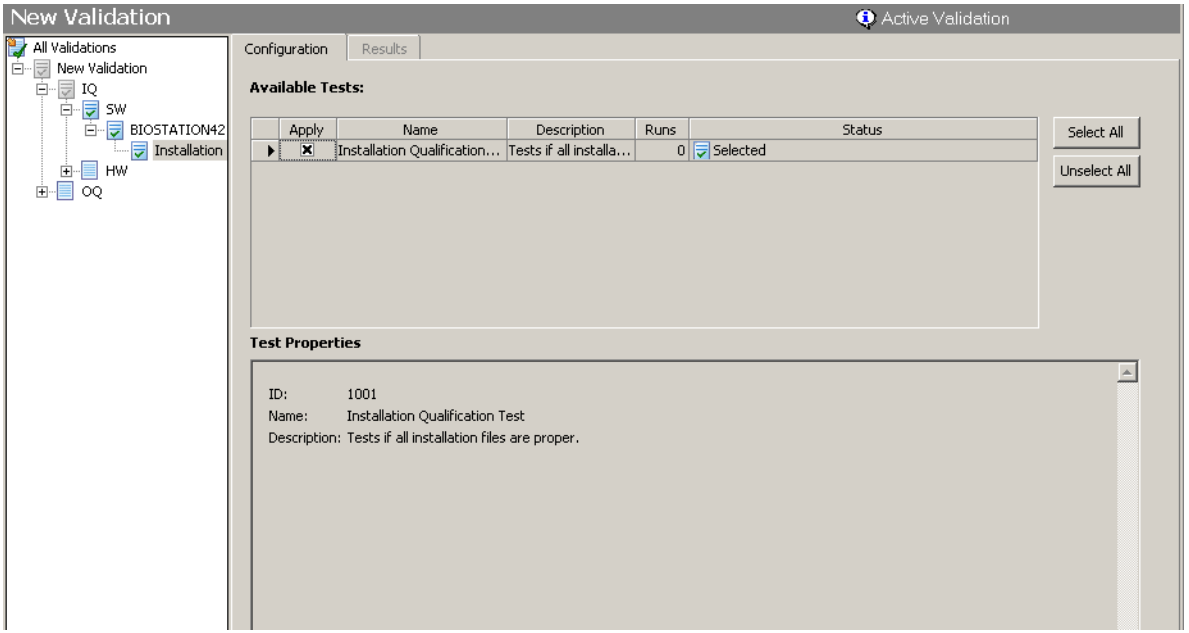


6 Nel *Pannello della struttura ad albero*, selezionare la categoria del test che si desidera eseguire. Selezionare la categoria tramite le opzioni *IQ/OQ – SW/HW – PC name/ Bioanalyzer name – Test Category*.

NOTA

Prima di eseguire i test dell'hardware (*HW*) è necessario verificare che il bioanalizzatore sia connesso ed acceso.

La scheda *Configuration* (Configurazione) consente di selezionare i test di qualificazione da eseguire durante la prova di validazione.



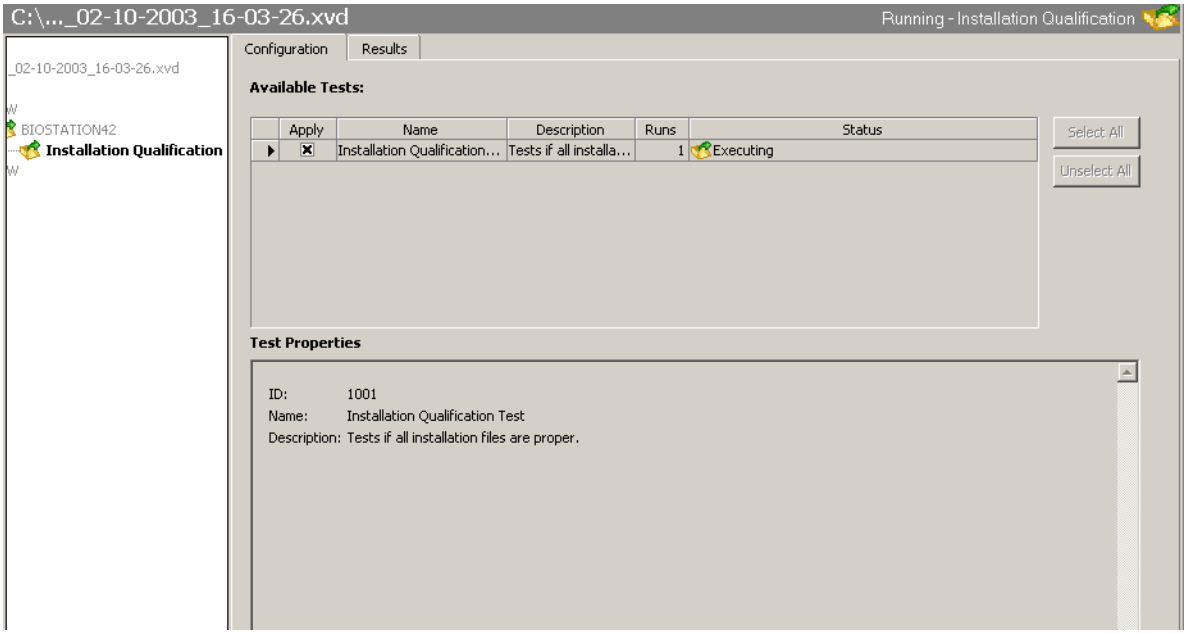
Per selezionare i test, spuntare la casella di controllo *Apply* (Applica) vicino al nome del/i test.

7 Per selezionare i test selezionati, fare clic sul pulsante *Start*  sulla barra degli strumenti.

Viene visualizzata la finestra di dialogo *Save As* (Salva con nome).

8 Specificare un nome ed una posizione per i risultati del file di validazione (.xvd), quindi fare clic su *Save* (Salva).

I test selezionati vengono eseguiti.

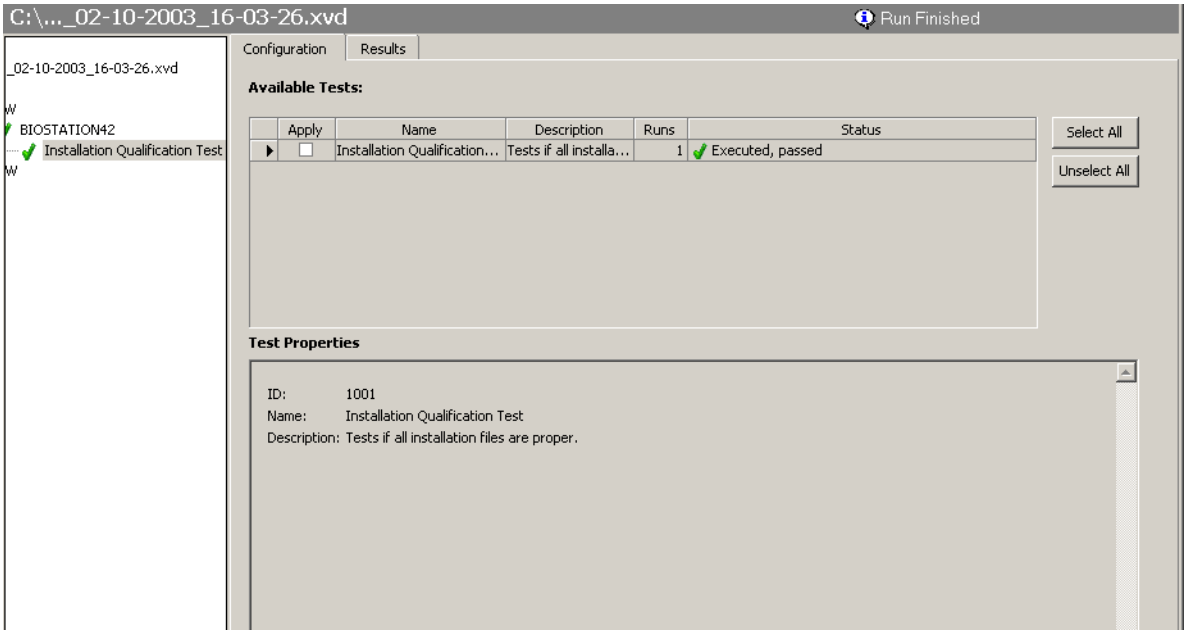


9 Al termine dell'esecuzione di tutti i testi, viene visualizzato il seguente messaggio:



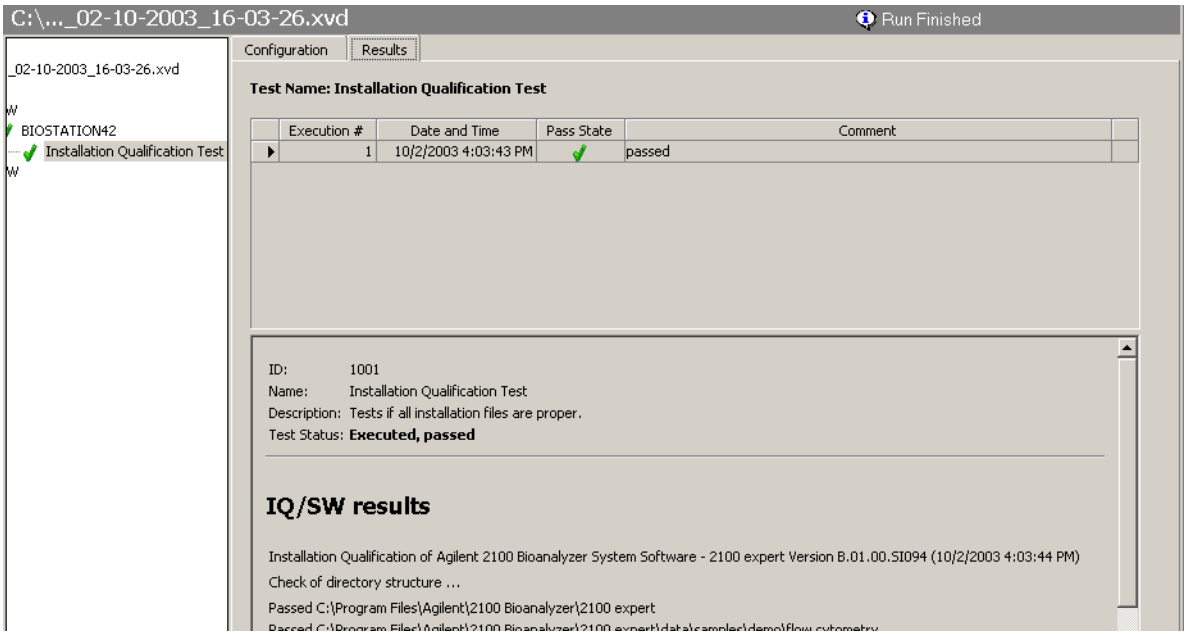
10 Fare clic su *OK*.

11 La colonna *Status* (Stato) viene visualizzata sia per i test con esito positivo che negativo.



Per informazioni dettagliate sulla scheda *Configuration* (Configurazione), vedere la sezione "Scheda Configuration (Configurazione)" a pagina 570.

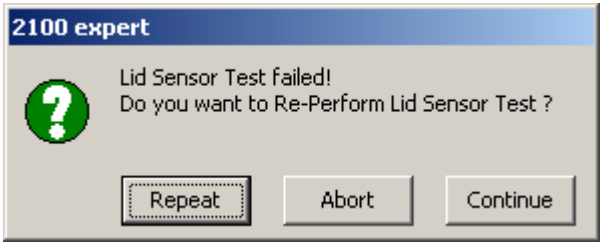
12 Per informazioni su come visualizzare ulteriori dettagli sull'esecuzione dei test, selezionare la scheda *Results* (Risultati).



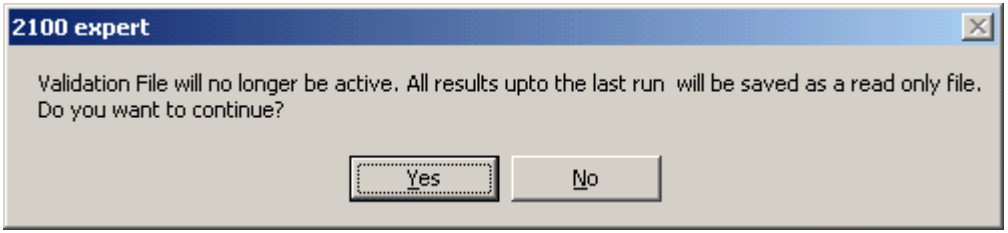
Per informazioni su come visualizzare ulteriori dettagli sulla scheda *Results* (Risultati), vedere la sezione "Scheda Results (Risultati)" a pagina 573.

13 A questo punto, è possibile selezionare altre categorie di test ed eseguire ulteriori test di qualificazione.

14 Se un test non viene completato correttamente, è possibile ripeterlo premendo *Repeat* (Ripeti), annullarlo premendo *Abort* (Annulla) oppure ignorarlo e proseguire con quello successivo premendo *Continue* (Continua):



15 Se si chiude il file dei risultati di validazione (*File* > *Close* (File > Chiudi)) e si tenta di passare ad un altro contesto o si chiude 2100 expert, viene visualizzato il seguente messaggio:


2100 expert
Validation File will no longer be active. All results upto the last run will be saved as a read only file.
Do you want to continue?
Yes
No

Selezionare *No* per tornare al contesto di validazione dove è possibile eseguire altri test di validazione.

Selezionare *Yes* (Sì) per chiudere il file dei risultati di validazione (.xvd) e impostarlo come file di sola lettura.

NOTA

I file dei risultati della validazione possono essere riaperti solo per la visualizzazione e la stampa.

SUGGERIMENTO

Selezionare *File* > *Print...* (File > Stampa) per generare un rapporto stampato della prova di validazione.

Riferimenti software di 2100 Expert

I riferimenti del software 2100 expert sono organizzati nel modo seguente:

- *Elementi della finestra dell'applicazione 2100 Expert*, come menu, barre degli strumenti, barre di stato, pannelli e cartelle costituiscono gli elementi standard dell'interfaccia utente.

  Per informazioni più dettagliate, vedere la sezione "Elementi della finestra dell'applicazione 2100 Expert" a pagina 375.

- *Finestre di dialogo* vengono utilizzate per effettuare operazioni con i file, per il controllo e l'analisi delle misurazioni del chip e per configurare l'applicazione 2100 expert.

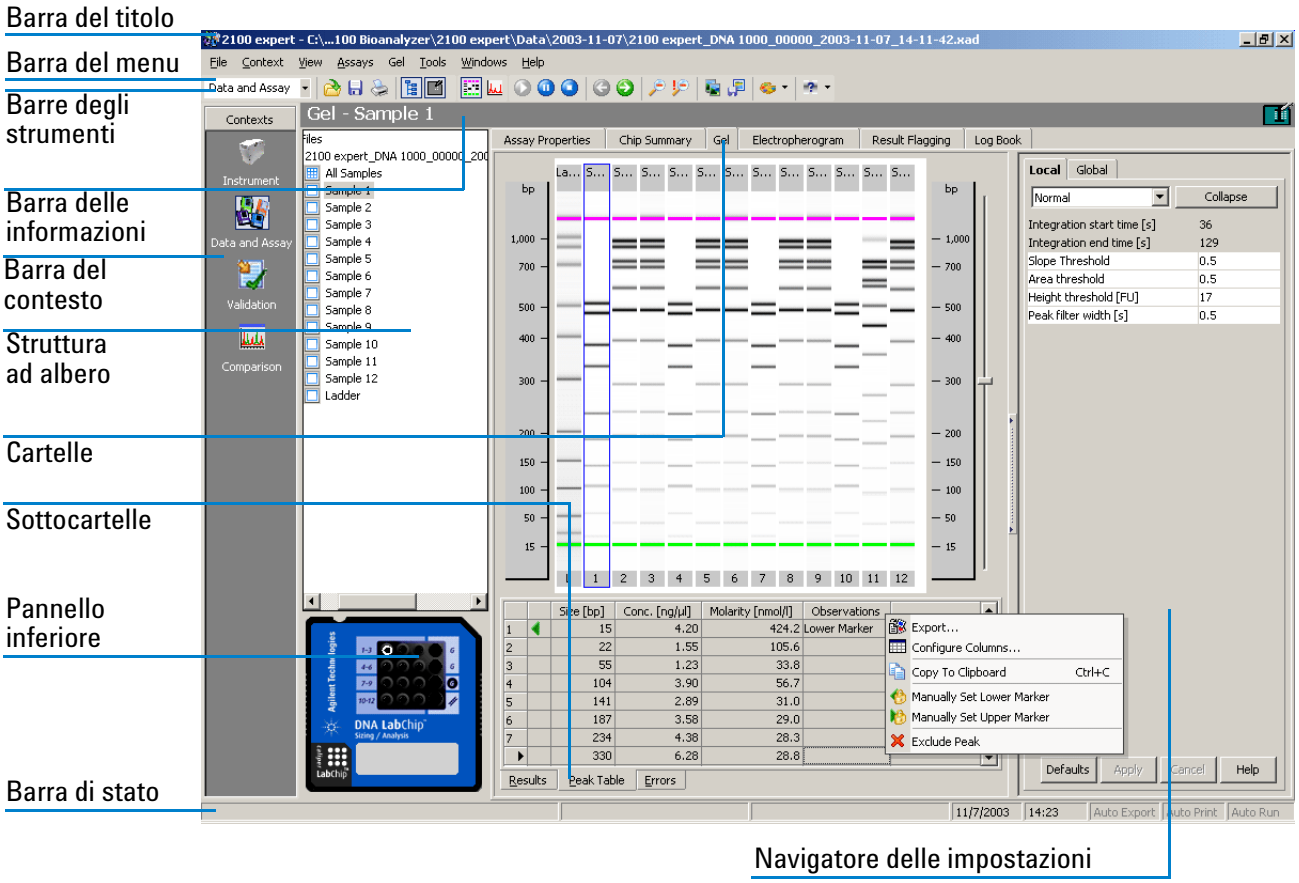
  Per informazioni più dettagliate, vedere la sezione "Finestre di dialogo" a pagina 580.

- *Collegamenti ed azioni del mouse* consentono di utilizzare il software 2100 expert in modo più efficiente.

  Per informazioni più dettagliate, vedere la sezione "Collegamenti ed azioni del mouse" a pagina 660.

Elementi della finestra dell'applicazione 2100 Expert

La finestra dell'applicazione 2100 expert comprende le seguenti aree di lavoro (contesto *Data and Assay* (Dati e analisi)):



Area	Scopo
Barra del titolo	Barra posta nella parte superiore della finestra che fornisce informazioni sull'applicazione avviata e sul file di analisi o del chip selezionato.
Barra del menu	Barra posta sotto la barra del titolo che contiene menu a tendina.
Barre degli strumenti	Consente di accedere rapidamente ai comandi utilizzati con maggiore frequenza.
Barra delle informazioni	Visualizza informazioni sullo strumento, sulle analisi e sui campione, sulla direzione del filtro (analisi citometrica a flusso) nonché un'icona che identifica il tipo di chip e mostra il numero del campione attualmente analizzato o visualizzato.
Barra del contesto	Consente di passare ad uno degli altri quattro contesti disponibili.
Pannello della struttura ad albero	Funziona come Windows Explorer; mostra quale campione è stato analizzato ed il chip utilizzato e consente di visualizzare i risultati come immagini gel-simili/elettroferogrammi o istogrammi/dot-plot. La struttura ad albero viene utilizzata anche per visualizzare, analisi, file di confronto, file di validazione e strumenti connessi.
Cartelle	Le cartelle (e le sottocartelle) rappresentano l'interfaccia utente principale. Le cartelle suddividono l'interfaccia utente nelle principali sezioni.

Area	Scopo
Setpoint Explorer (Navigatore delle impostazioni)	Il navigatore delle impostazioni consente di modificare i parametri per l'analisi dei dati: • Parametri d'analisi (file d'analisi, .xsy) • Parametri del chip (file di dati del chip, .xad, modalità *Globale*) • Parametri del campione (file di dati del chip, .xad, modalità *Locale*)
Pannello inferiore	Visualizza un'icona del chip/piccola immagine gel-simile che può essere utilizzata per spostarsi tra i campioni.
Status Bar (Barra di stato)	Visualizza i messaggi e le attività del sistema, lo stato attuale dell'applicazione e indica se le funzioni *Auto Run* (Esecuzione automatica), *Auto Export* (Esportazione automatica) e *Auto Print* (Stampa automatica) sono attive.

Barra del titolo

Nel contesto *Data and Assay* (Dati e analisi), il nome ed il percorso dei dati d'analisi o del chip corrente vengono visualizzati sulla barra del titolo:



Se il file è stato aperto in sola lettura, viene visualizzato tra parentesi.

Barra del menu

La barra dei menu della finestra dell'applicazione 2100 expert comprende i seguenti menu a tendina:

Menu	Scopo
Menu File	Fornisce funzioni per l'uso e la stampa dei file.
Menu Context (Contesto)	Consente di passare da un contesto all'altro.
Menu View (Visualizza)	Fornisce funzioni per passare dalla visualizzazione gel/elettroferogramma alla visualizzazione istogramma/dot-plot e viceversa. Consente anche di visualizzare e nascondere i pannelli.
Menu Assays (Analisi)	Consente di aprire file d'analisi per la modifica (contesto *Data and Assay* (Dati e analisi)). Consente di selezionare un tipo di analisi per il chip (contesto *Instrument* (Strumento)).
Menu Gel	Fornisce funzioni per modificare la visualizzazione grafica dei gel.
Menu Electropherogram (Elettroferogramma)	Fornisce funzioni per modificare la visualizzazione degli elettroferogrammi e per sovrapporli.
Menu Histogram (Istogramma)	Fornisce funzioni per la modifica della visualizzazione degli istogrammi, la sovrapposizione degli istogrammi e per la gestione di marker e filtri.

Menu	Scopo
Menu Dot Plot	Fornisce funzioni per la modifica della visualizzazione dei dot-plot e per la gestione di aree e filtri.
Menu Result Flagging (Evidenziazione dei risultati) (solo analisi elettroforetiche)	Fornisce comandi per la creazione, l'organizzazione e l'applicazione delle regole di evidenziazione dei risultati.
Menu Log Book (Registro)	Consente di rivedere il file di registro dell'analisi del chip e fornisce comandi per la ricerca e filtrazione degli eventi presenti nel file di registro.
Menu Instrument (Strumento)	Consente di avviare ed interrompere l'analisi del chip.
Menu Tile (Affianca)	Nel contesto *Instrument* (Strumenti), è stato selezionato *All Instruments* (Tutti gli strumenti), questo menu consente di ordinare le finestre degli strumenti e di passare da una finestra all'altra.
Menu Instruments (Strumenti)	Consente di aprire la finestra di dialogo *Options* (Opzioni) che permette di specificare impostazioni valide per tutto il sistema.

Menu	Scopo
Menu Windows (Finestre)	Consente di aprire file d'analisi o di dati del chip per la modifica (contesto *Data and Assay* (Dati e analisi)). Consente di selezionare uno dei bioanalizzatori connessi (contesto *Instrument* (Strumento)).
Menu Help (Guida in linea)	Consente di accedere all'Help (Guida in linea), per avere informazioni sul software e sull'hardware installato e registrare opzioni aggiuntive del software.

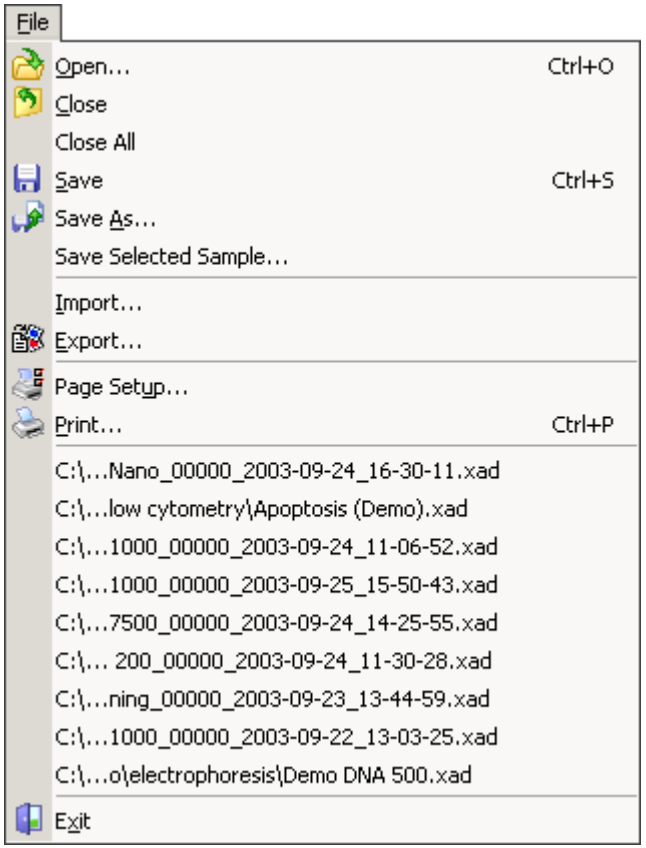
NOTA

Non tutti i menu sono visibili contemporaneamente. Il menu *Electropherogram* (Elettroferogramma), per esempio, è disponibile solo quando viene visualizzato un elettroferogramma (vista singola o a griglia).

Menu File

Il menu *File* fornisce funzioni per la gestione e stampa dei file.

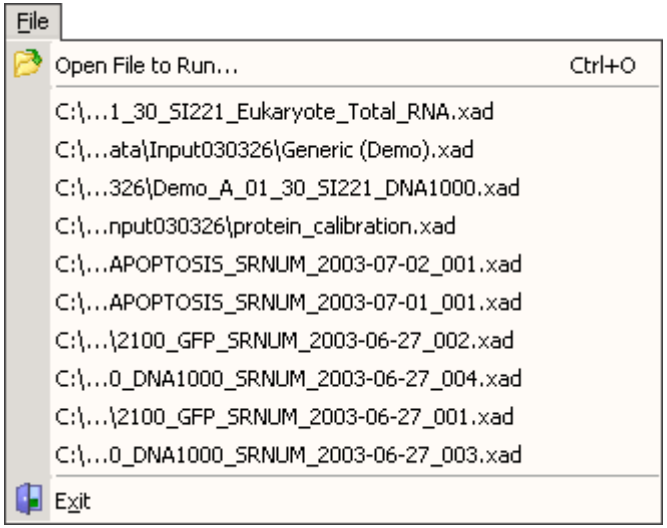
Contesto Data and Assays (Dati e analisi)



Voce del menu File	Funzione
Open... (Apri)	Apre la finestra di dialogo *Open (Apri)*, che consente di aprire file di dati del chip (.xad) o d'analisi (.xsy). Possono essere aperti in parallelo file multipli di analisi diverse. Vedere la sezione "Open (Apri)" a pagina 601.
Close (Chiudi)	Chiude il file di dati del chip o d'analisi attualmente selezionato.
Close All (Chiudi tutti)	Chiude tutti i file di dati del chip o d'analisi aperti.
Save (Salva)	Salva il file di dati del chip o d'analisi selezionato con il suo nome attuale.
Save As... (Salva con nome)	Apre una finestra di dialogo del sistema che consente di salvare il file attuale come file di dati del chip (.xad) o file d'analisi (.xsy).
Save Selected Sample... (Salva campione selezionato)	Apre una finestra di dialogo del sistema che consente di salvare il file attuale come file di dati del chip (.xad) o file d'analisi (.xsy).
Import... (Importa)	Apre una finestra di dialogo del sistema che consente d'importare file dai software Bio Sizing (.cld/.asy) o Cell Fluorescence (.cad/.csy). Vedere la sezione "Importazione dei dati" a pagina 304.

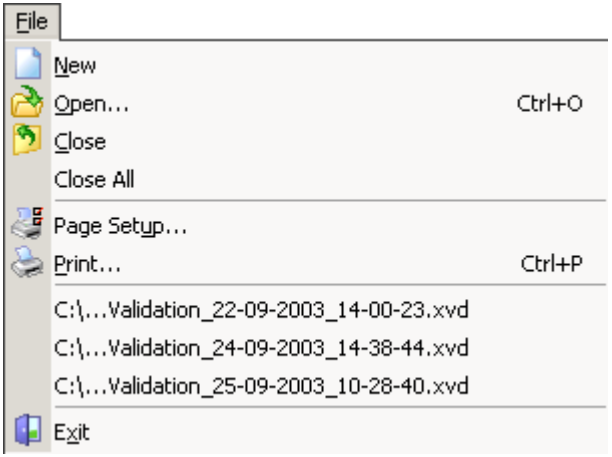
Voce del menu File	Funzione
Export... (Esporta)	Visualizza la finestra di dialogo *Export Options (Opzioni di esportazione) (Citometria a flusso)* o *Export Options (Opzioni di esportazione) (Elettroforesi)* che consente di esportare dati del chip o d'analisi con un formato specifico. Vedere le sezioni *"*Export Options (Opzioni di esportazione) (Citometria a flusso)" a pagina 603 *e "*Export Options (Opzioni di esportazione) (Elettroforesi)" a pagina 607 .
Page Setup... (Impostazione pagina)	Visualizza la finestra di dialogo *Page Setup... (Impostazione pagina)* che consente di modificare l'aspetto della pagina stampata. Vedere la sezione *"*Page Setup... (Impostazione pagina)" a pagina 648.
Print... (Stampa)	Visualizza la finestra di dialogo *Print (Stampa) (Citometria a flusso) o Print (Stampa) (Elettroforesi)* che consentono di generare diverse stampe dei file dei dati del chip o di analisi. Vedere le sezioni *"*Print (Stampa) (Citometria a flusso)" a pagina 618 *e "*Print (Stampa) (Elettroforesi)" a pagina 622 .
Recently used files (File utilizzati recentemente)	Un elenco di fino a dieci file di dati del chip (.xad) e/o di analisi (.xsy) che fornisce rapido accesso ai file utilizzati più recentemente.
Exit (Esci)	Chiude l'applicazione 2100 expert. Se sono presenti dati non salvati, viene visualizzata la finestra di dialogo *2100 Expert – Close (Chiudi)*. Vedere la sezione *"*2100 Expert – Close (Chiudi)" a pagina 585.

Contesto Instrument (Strumento)



Voce del menu File	Funzione
Open File to Run... (Apri file sa eseguire)	Apre la finestra di dialogo *Open (Apri)*, che consente di aprire file di dati del chip (.xad) o d'analisi (.xsy). Vedere la sezione "Open (Apri)" a pagina 601.
Recently used files (File utilizzati recentemente)	Un elenco di fino a dieci file di dati del chip (.xad) e/o di analisi (.xsy) che fornisce rapido accesso ai file utilizzati più recentemente.
Exit (Esci)	Chiude l'applicazione 2100 expert. Se sono presenti dati non salvati, viene visualizzata la finestra di dialogo *2100 Expert – Close (Chiudi)*. Vedere la sezione "2100 Expert – Close (Chiudi)" a pagina 585. Se è in corso un'analisi, non è possibile chiudere 2100 expert.

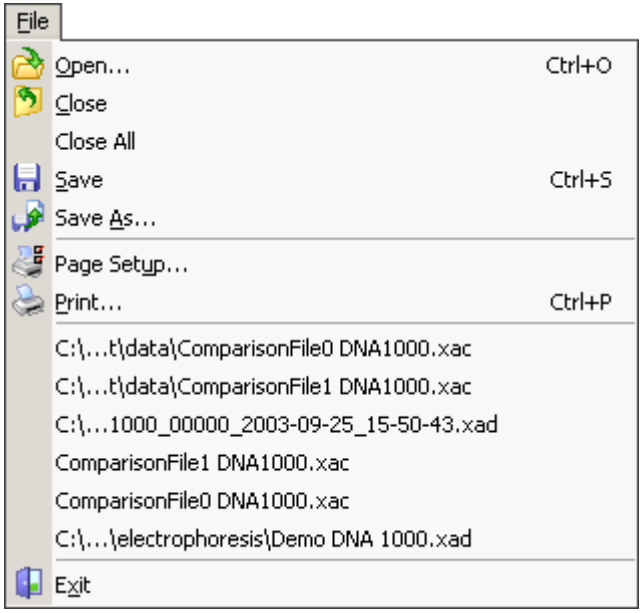
Contesto Validation (Validazione)



Voce del menu File	Funzione
New (Nuovo)	Inizia una nuova validazione ed inserisce una voce *New Validation* (Nuova validazione) nella struttura ad albero.
Open... (Apri)	Fa apparire una finestra di dialogo del sistema che consente di aprire un file dei risultati di validazione (.xvd).
Close (Chiudi)	Chiude il file dei risultati di validazione attuale.
Close All (Chiudi tutti)	Chiude tutti i file dei risultati di validazione aperti.
Page Setup... (Impostazione pagina)	Visualizza la finestra di dialogo *Page Setup... (Impostazione pagina)* che consente di modificare l'aspetto della pagina stampata. Vedere la sezione "Page Setup... (Impostazione pagina)" a pagina 648.

Voce del menu File	Funzione
Print... (Stampa)	Visualizza la finestra di dialogo *Print (Stampa) (Validazione)* finestra di dialogo che consente di generare vari report dei test di qualificazione. Vedere la sezione *"Print (Stampa) (Validazione)" a pagina 626.*
Recently used files (File utilizzati recentemente)	Un elenco di fino a dieci file di risultati della validazione (.xvd) che fornisce rapido accesso ai file utilizzati più recentemente.
Exit (Esci)	Chiude l'applicazione 2100 expert. Se sono presenti dati non salvati, viene visualizzata la finestra di dialogo *2100 Expert – Close (Chiudi)*. Vedere la sezione *"2100 Expert – Close (Chiudi)" a pagina 585.*

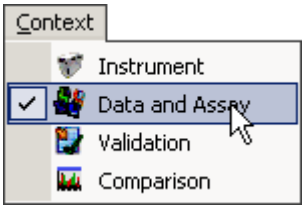
Contesto Comparison (Confronto)



Voce del menu File	Funzione
Open... (Apri)	Apre una finestra di dialogo che consente di aprire un file di confronto (.xac) o dei dati del chip (.xad).
Close (Chiudi)	Chiude il file di confronto attuale.
Close All (Chiudi tutti)	Chiude tutti i file di confronto aperti.
Save (Salva)	Salva il file di confronto selezionato con il suo nome attuale.

Voce del menu File	Funzione
Save As... (Salva con nome)	Apre una finestra di dialogo che consente di salvare il file di confronto attuale con un nuovo nome.
Page Setup... (Impostazione pagina)	Visualizza la finestra di dialogo *Page Setup... (Impostazione pagina)* che consente di modificare l'aspetto della pagina stampata. Vedere la sezione "Page Setup... (Impostazione pagina)" a pagina 648.
Print... (Stampa)	Visualizza la finestra di dialogo *Print (Stampa) (Confronto)* che consente di stampare un report del confronto. Vedere la sezione "Print (Stampa) (Confronto)" a pagina 629.
Recently used files (File utilizzati recentemente)	Un elenco di fino a dieci file di dati del chip (.xad) e/o di confronto (.xac) che fornisce rapido accesso ai file utilizzati più recentemente.
Exit (Esci)	Chiude l'applicazione 2100 expert. Se sono presenti dati non salvati, viene visualizzata la finestra di dialogo *2100 Expert – Close (Chiudi)*. Vedere la sezione "2100 Expert – Close (Chiudi)" a pagina 585.

Menu Context (Contesto)



Il menu *Context* (Contesto) consente di passare da una all'altra di quattro modalità di programma, dette "contesti":

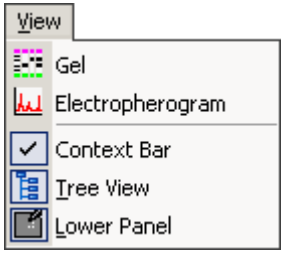
Voce del menu Context (Contesto)	**Funzione**
Instrument (Strumento)	Passa al contesto *Instrument* (Strumento).
Data and Assay (Dati ed analisi)	Passa al contesto *Data and Assay* (Dati ed analisi).
Validation (Validazione)	Passa al contesto *Validation* (Validazione).
Comparison (Confronto)	Passa al contesto *Comparison* (Confronto).

Il segno di spunta indica il contesto attivo.

Menu View (Visualizza)

Il menu *View* (Visualizza) fornisce le funzioni per passare dalla visualizzazione gel/elettroferogramma alla visualizzazione istogramma/dot-plot e viceversa. Inoltre consente di passare dalla visualizzazione a strumento singolo a quella multistrumento e viceversa. Consente anche di mostrare e nascondere i pannelli.

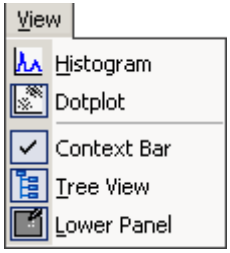
Contesto Data and Assays (Dati e analisi) (selezionata analisi elettroforetica)



Voce del menu View (Visualizza)	Funzione
Gel	Passa alla *Scheda Gel* del file di dati del chip (o di analisi) attuale.
Electropherogram (Elettroferogramma)	Passa alla *Scheda Electropherogram (Single/Grid View) (Elettroferogramma (Visualizzazione singola/griglia))* del file di dati del chip (o di analisi) attuale.
Barra del contesto	Mostra o nasconde il *Barra del contesto*.

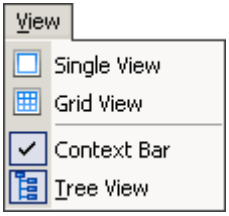
Voce del menu View (Visualizza)	Funzione
Struttura ad albero	Mostra o nasconde il *Pannello della struttura ad albero*.
Pannello inferiore	Mostra o nasconde *Pannello inferiore* (immagine grafica del chip o del gel).

Contesto Data and Assays (Dati e analisi) (selezionata analisi citometrica a flusso)



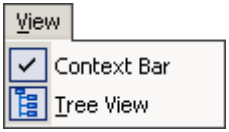
Voce del menu View (Visualizza)	Funzione
Histogram (Istogramma)	Passa alla *Scheda Histogram (Single/Grid View) (Istogramma (Visualizzazione singola/a griglia))* del file di dati del chip (o di analisi) attuale.
Dotplot	Passa alla *Scheda Dot-Plot (Single/Grid view) (Visualizzazione singola/a griglia)* del file di dati del chip (o di analisi) attuale.
Barra del contesto	Mostra o nasconde il *Barra del contesto*.
Struttura ad albero	Mostra o nasconde il *Pannello della struttura ad albero*.
Pannello inferiore	Mostra o nasconde *Pannello inferiore* (immagine grafica del chip o del gel).

Contesto Instrument (Strumento)



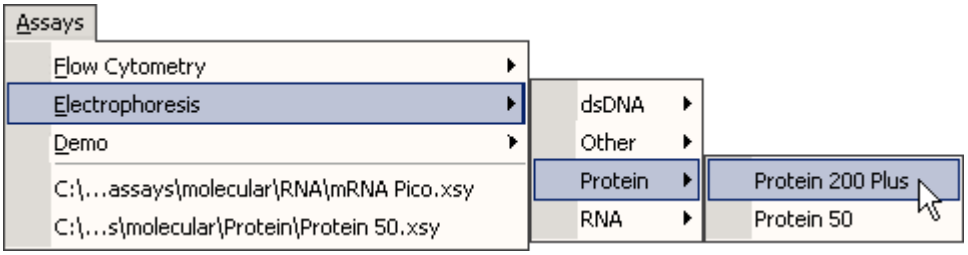
Voce del menu View (Visualizza)	Funzione
Single View (Visualizzazione singola)	Passa alla *Scheda Instrument (Strumento) (Visualizzazione singola)* dello strumento selezionato.
Grid View (Visualizzazione a griglia)	Passa alla *Scheda Instrument (Strumento) (Visualizzazione a griglia)*.
Barra del contesto	Mostra o nasconde il *Barra del contesto*.
Struttura ad albero	Mostra o nasconde il *Pannello della struttura ad albero*.

Contesto Validation/Comparison (Validazione/Confronto)



Voce del menu View (Visualizza)	Funzione
Barra del contesto	Mostra o nasconde la *Barra del contesto*.
Struttura ad albero	Mostra o nasconde il *Pannello della struttura ad albero*.

Menu Assays (Analisi)



Il menu *Assays* (Analisi) consente di aprire file d'analisi per la modifica (contesto *Data and Assay* (Dati e analisi)). Nel contesto *Instrument* (Strumento), si può selezionare un'analisi per il chip se un bioanalizzatore è connesso e acceso.

Voce del menu Assays (Analisi)	Funzione
Electrophoresis -dsDNA (Elettroforesi - dsDNA)	Tutte le analisi situate nella cartella "..\assays\electrophoresis\dsDNA" vengono elencate qui. Per predefinizione queste sono: • *DNA 1000* • *DNA 12000 Laddering* • *DNA 12000* • *DNA 500* • *DNA 7500*

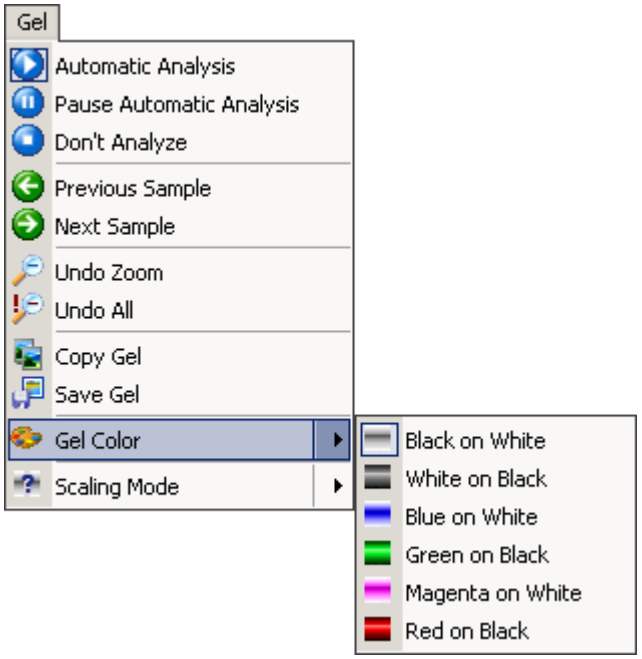
Voce del menu Assays (Analisi)	Funzione
Electrophoresis - RNA (Elettroforesi - RNA)	Tutte le analisi situate nella cartella "..\assays\electrophoresis\RNA" vengono elencate qui. Per predefinizione queste sono: • *Eukaryote Total RNA Nano* • *Eukaryote Total RNA Pico* • *mRNA Nano* • *mRNA Nano* • *Prokaryote Total RNA Nano* • *Prokaryote Total RNA Pico*
Electrophoresis – Protein (Elettroforesi – Proteina)	Tutte le analisi situate nella cartella "..\assays\electrophoresis\protein" vengono elencate qui. Per predefinizione queste sono: • *Protein 50* • *Protein 200 Plus*
Electrophoresis - Others (Elettroforesi - Altri)	Tutte le analisi situate nella cartella "..\assays\electrophoresis\altri" vengono elencate qui. Per predefinizione queste sono: • *Cy5 Labeled Nucleic Acids Nano*

Voce del menu Assays (Analisi)	Funzione
Flow Cytometry (Citometria a flusso)	Tutte le analisi situate nella cartella "..\assays\electrophoresis\flow cytometry" vengono elencate qui. Per predefinizione queste sono: • *Antibody Staining (Colorazione anticorpi)* • *Apoptosis (Apoptosi)* • *Apoptosis – Fast protocol (Apoptosi – protocollo veloce)* • *siRNA Transfection Viability (Fattibilità di transfezione siRNA)* • *Blue to Red (Da blu a rosso)* • *Checkout Beads (Elementi attivi di controllo)* • *Generic (Generica)* • *GFP* • *On-chip Antibody Staining (Colorazione anticorpi su chip)* • *On-chip GFP (GFP su chip)* • *Red to blue (Da rosso a blu)* Descrizioni di queste analisi predefinite vengono fornite nelle sezioni "Panoramica dell'analisi citometrica a flusso" a pagina 202 e "Valutazione delle analisi di colorazione degli anticorpi, apoptosi e GFP" a pagina 271.

Voce del menu Assays (Analisi)	Funzione
Demo - Flow Cytometry (Demo - Citometria a flusso)	Tutte le analisi situate nella cartella "..\assays\demo\flow cytometry" vengono elencate qui. Per predefinizione queste sono: • *Colorazione anticorpi (Demo)* • *Apoptosi (Demo)* • *Elementi attivi di controllo (Demo)* • *GFP (Demo)* • *Generica (Demo)* Queste analisi possono essere utilizzate per l'addestramento in modalità non in linea (senza bioanalizzatore connesso). Vedere la sezione "Esecuzione di un'analisi demo" a pagina 44.

Voce del menu Assays (Analisi)	Funzione
Demo - Electrophoresis (Demo - Elettroforesi)	Tutte le analisi situate nella cartella "..\assays\demo\elettroforesi" vengono elencate qui. *Demo Cy5 Labeled Nucleic Acids Nano* • *Demo DNA 1000* • *Demo DNA 12000* • *Demo DNA 500* • *Demo DNA 7500* • *Demo Eukaryote Total RNA Nano* • *Demo Eukaryote Total RNA Pico* • *Demo mRNA Nano* • *Demo mRNA Pico* • *Demo Prokaryote Total RNA Nano* • *Demo Prokaryote Total RNA Pico* • *Demo Protein 200 Plus* • *Demo Protein 50* Utilizzare queste analisi dimostrative per l'addestramento non in linea (senza il bioanalizzatore connesso). Vedere la sezione "Esecuzione di un'analisi demo" a pagina 44.
Recently used files (File utilizzati recentemente)	Fornisce rapido accesso alle analisi utilizzate più recentemente (fino a cinque).

Menu Gel

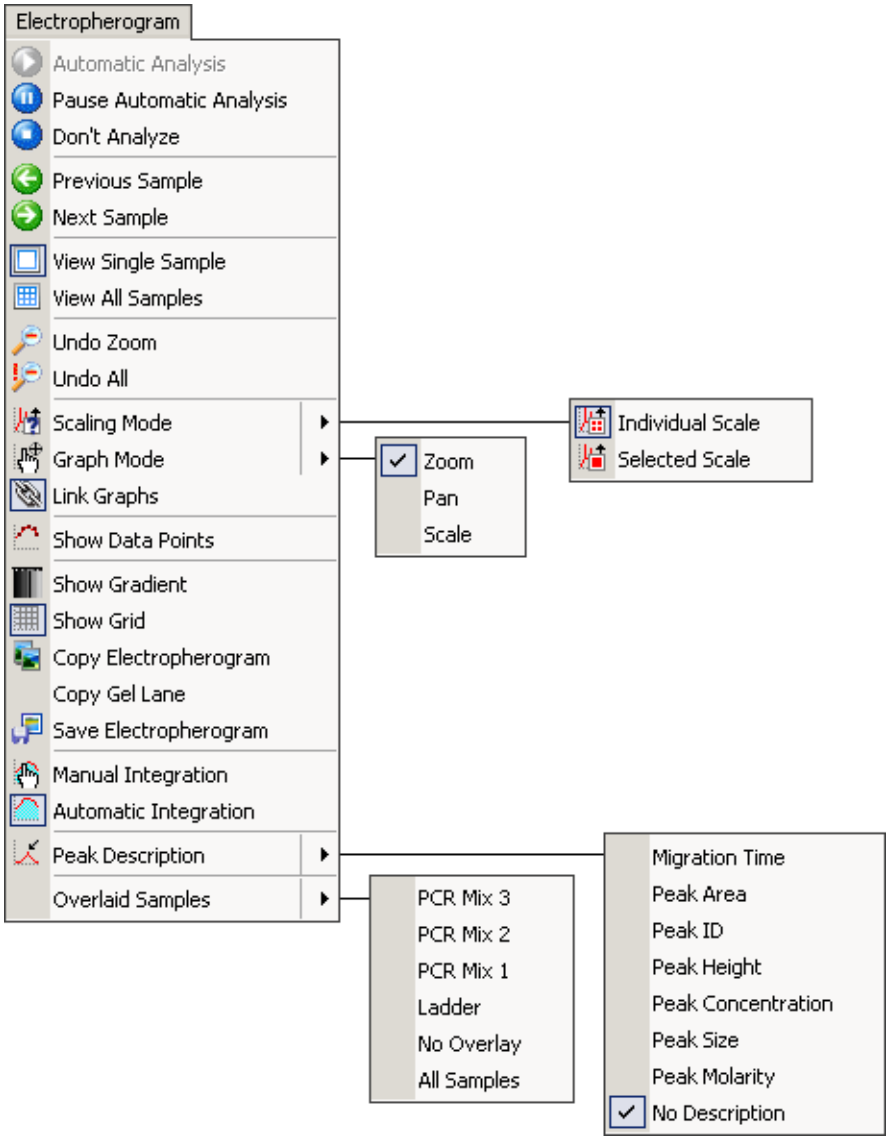


Voce del menu Gel	Funzione
Automatic Analysis (Analisi automatica)	Avvia l'analisi automatica. Vengono rilevati i picchi e viene calcolata la Peak Table (Tabella dei picchi). I risultati vengono ricalcolati ogni volta che vengono applicate modifiche alle impostazioni dell'analisi dei dati.
Pause Automatic Analysis (Metti in pausa l'analisi automatica)	Mette in pausa l'analisi automatica. Si consiglia di mettere in pausa l'analisi durante l'integrazione manuale.

Voce del menu Gel	Funzione
Don't Analyze (Non analizzare)	L'analisi viene disattivata. I dati grezzi vengono visualizzati nella scheda *Gel* e la *Peak Table* (Tabella dei picchi) viene cancellata.
Previous Sample (Campione precedente)	Evidenzia e visualizza il grafico a gel del campione precedente. Se viene evidenziato lo standard, si viene reindirizzati all'ultimo campione. Non disponibile se viene evidenziato il primo campione.
Next Sample (Campione successivo)	Evidenzia e visualizza il grafico a gel del campione successivo. Se viene evidenziato l'ultimo campione, si viene reindirizzati allo standard. Non disponibile se viene evidenziato lo standard.
Undo Zoom (Annulla zoom)	Annulla l'ultima azione di zoom, panoramica o ridimensionamento.
Undo All (Annulla tutti)	Annulla tutte le azioni di zoom, pan e ridimensionamento.
Copy Gel (Copia gel)	Mette una copia del grafico del gel (di tutti i campioni) negli appunti.
Save Gel (Salva gel)	Apre una finestra di dialogo di sistema che consente di salvare il grafico del gel (tutti i campioni) come immagine in formato JPEG (.jpg), Windows Bitmap (.bmp) o Tagged Image File (.tif).

Voce del menu Gel	Funzione
Gel Color (Colore del gel)	Apre un sottomenu da cui è possibile selezionare uno schema di colori predefinito per il primo piano/sfondo da utilizzare per la visualizzazione del grafico del gel (tutte le corsie). I colori sono studiati per approssimarsi ai colori reali dei vari coloranti e tecniche per le immagini gel-simile. *Blue on White* (Blu su bianco) per esempio, simula un gel Coomassie, spesso utilizzato per le proteine.
Scaling Mode (Modalità scala)	Apre un sottomenu da cui è possibile selezionare una delle seguenti modalità: • *Individual Scale (Scala singola)* Ogni corsia utilizza la propria scala che è ottimizzata per quella corsia. • *Selected Scale (Scala selezionata)* Tutte le corsie utilizzano la stessa scala che è ottimizzata per la corsia selezionata. • *Global Scale* (Scala generale) Tutte le corsie utilizzano la stessa scala.

Menu Electropherogram (Elettroferogramma)



Voce del menu Electropherogram (Elettroferogramma)	Funzione
Automatic Analysis (Analisi automatica)	Avvia l'analisi automatica. Vengono rilevati i picchi e viene calcolata la Peak Table (Tabella dei picchi). I risultati vengono ricalcolati ogni volta che vengono applicate modifiche alle impostazioni dell'analisi dei dati.
Pause Automatic Analysis (Metti in pausa l'analisi automatica)	Mette in pausa l'analisi automatica.
Don't Analyze (Non analizzare)	L'analisi viene disattivata. I dati grezzi vengono visualizzati nella scheda *Electropherogram* (Elettroferogramma) e la *Peak Table* (Tabella dei picchi) viene cancellata.
Previous Sample (Campione precedente)	Evidenzia e visualizza l'elettroferogramma del campione precedente. Se viene evidenziato lo standard, si viene reindirizzati all'ultimo campione. Non disponibile se viene evidenziato il primo campione.
Next Sample (Campione successivo)	Evidenzia e visualizza l'elettroferogramma del campione successivo. Se viene evidenziato l'ultimo campione, si viene reindirizzati allo standard. Non disponibile se viene evidenziato lo standard.

Voce del menu Electropherogram (Elettroferogramma)	Funzione
View Single Sample (Visualizza singolo campione)	Visualizza l'elettroferogramma attuale in formato singolo.
View All Samples (Visualizza tutti i campioni)	Passa al formato di visualizzazione multipozzetto ed evidenzia l'elettroferogramma attuale.
Undo Zoom (Annulla zoom)	Annulla l'ultima azione di zoom, panoramica o ridimensionamento.
Undo All (Annulla tutti)	Annulla tutte le azioni di zoom, pan e ridimensionamento.

Voce del menu Electropherogram (Elettroferogramma)	Funzione
Modalità Scale (Scala)	Apre un sottomenu da cui è possibile selezionare una delle seguenti modalità: • *Individual Scale (Scala singola)* Ogni grafico utilizza la propria scala che è ottimizzata per quel grafico. • *Selected Scale (Scala selezionata)* Tutti i grafici utilizzano la stessa scala che è ottimizzata per il grafico selezionato. • *Global Scale* (Scala generale) (solo con visualizzazione a griglia). Tutti i grafici utilizzano la stessa scala che è scelta in modo che tutti gli elettroferogrammi siano compresi nella visualizzazione.

Voce del menu Electropherogram (Elettroferogramma)	Funzione
Modalità Graph (Grafica)	Consente di selezionare una delle seguenti operazioni di trascinamento sull'elettroferogramma: • *Zoom* Ingrandisce a tutto schermo l'area corrispondente. • *Pan (Panoramica)* Sposta il grafico, ed è utile in particolare per grafici dove è già stato eseguito lo zoom. • *Scale (Scala)* Trascinando a sinistra o in basso riduce la visualizzazione in quella direzione, trascinando a destra o in alto ingrandisce la visualizzazione in quella direzione.
Link Graphs (Collega grafici)	Quando questa opzione è abilitata, tutte le operazioni di zoom, panoramica e ridimensionamento hanno effetto su tutti gli elettroferogrammi.
Show Data Points (Mostra punti dei dati)	Mostra/nasconde i punti dei dati utilizzati per generare un elettroferogramma. I punti dei dati sono visibili solo nella visualizzazione singola. I punti dei dati distano tra di loro 0,05 secondi dato che la risoluzione del tempo dei punti dei dati è 0,05 secondi, che corrisponde alla loro velocità d'acquisizione (20 Hz).

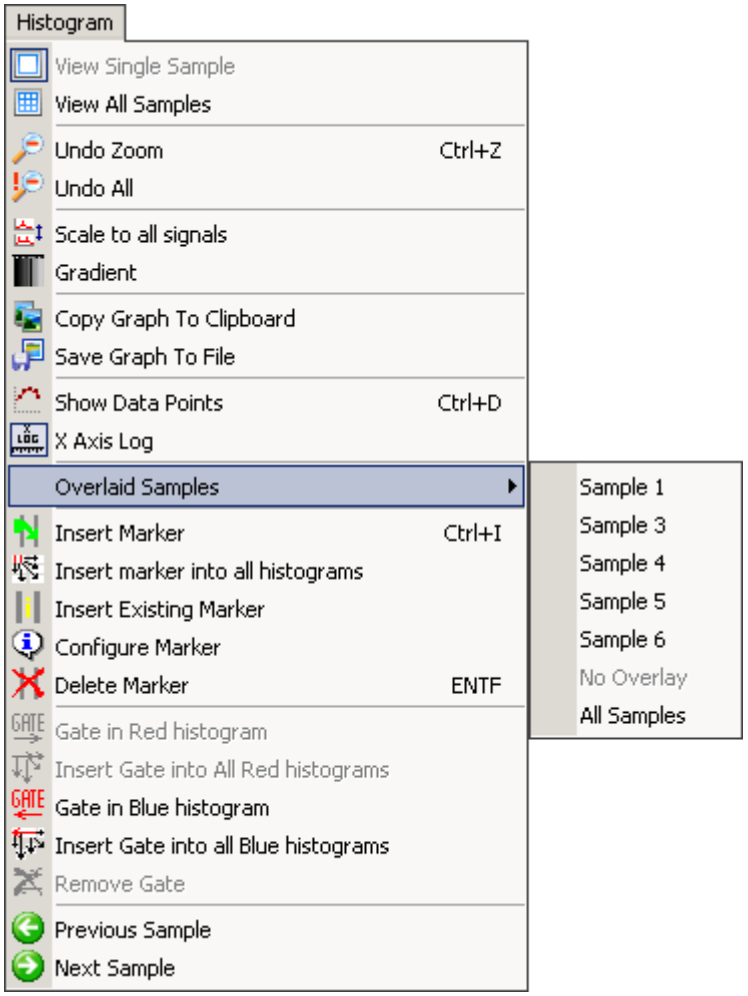
Voce del menu Electropherogram (Elettroferogramma)	Funzione
Show Gradient (Mostra gradiente)	Mette un gradiente di colore da grigio a bianco sullo sfondo dell'elettroferogramma, oppure rimuove il gradiente.
Show Grid (Mostra griglia)	Mostra/nasconde le linee della griglia (solo visualizzazione singola).
Copy Electropherogram (Copia elettroferogramma)	Mette una copia dell'elettroferogramma negli appunti (solo visualizzazione singola). Nella visualizzazione multipozzetto vengono copiati tutti gli elettroferogrammi.
Save Electropherogram (Salva elettroferogramma)	Apre una finestra di dialogo di sistema che consente di salvare l'elettroferogramma (visualizzazione singola) o tutti gli elettroferogrammi (visualizzazione multipozzetto) come immagine in formato JPEG (.jpg), Windows Bitmap (.bmp), Windows Meta File (.wmf), CompuServe Graphics Interchange (.gif), o Tagged Image File (.tif).
Manual Integration (Integrazione manuale) (solo per le analisi DNA e Proteina)	Passa alla modalità d'integrazione manuale dei picchi. In questa modalità è possibile: • Modificare i punti iniziale e finale della linea di base di un determinato picco • Aggiungere o eliminare determinati picchi dall'integrazione. Vedere anche la sezione "Manual Integration (Integrazione manuale)" a pagina 156.

Voce del menu Electropherogram (Elettroferogramma)	Funzione
Manual Integration (Integrazione manuale) (solo per le analisi DNA e Proteina)	Passa alla modalità d'integrazione automatica (tutte le integrazioni manuali andranno perse).
Peak Description (Descrizione del picco)	Consente di scegliere il tipo di etichetta del picco da visualizzare sull'elettroferogramma. Le etichette sono visibili solo in modalità singolo pozzetto e se la scheda secondaria *Peak Table* (Tabella dei picchi) è selezionata.

Voce del menu Electropherogram (Elettroferogramma)	Funzione
Overlaid Samples (Campioni sovrapposti)	Consente di sovrapporre elettroferogrammi da pozzetti multipli (solo visualizzazione singola). Ogni elettroferogramma sarà visualizzato in un colore differente ed apparirà una legenda dei colori sulla Scheda secondaria *Legend* (Legenda). • *Sample 1...12* (Campioni da 1 a 12) seleziona un singolo campione da sovrapporre al campione attuale (che viene visualizzato in grigio). • *Ladder* (Standard) sovrappone l'elettroferogramma del pozzetto dello standard. • *No Overlay* (Non sovrapporre) annulla la sovrapposizione. • *All Samples* (Tutti i campioni) sovrappone tutti i campioni del chip. La sovrapposizione dei campioni può essere effettuata anche facendo clic tenendo premuto CTRL o MAIUSC sulla corsia del gel nel pannello inferiore (vedere la sezione "Pannello inferiore" a pagina 465).

Menu Histogram (Istogramma)

Single View (Visualizzazione singola)



Voce del menu Histogram (Istogramma)	Funzione
View Single Sample (Visualizza singolo campione)	Visualizza l'istogramma attuale in formato singolo.
View All Samples (Visualizza tutti i campioni)	Passa al formato di visualizzazione a griglia ed evidenzia l'istogramma attuale.
Undo Zoom (Annulla zoom)	Annulla l'ultima azione di zoom.
Undo All (Annulla tutti)	Annulla tutte le azioni di zoom.
Scale to all signals (Riscala per tutti i segnali)	Adatta le scale degli assi X ed Y ai grafici sovrapposti. Tutte le curve saranno visibili completamente nei grafici sovrapposti.
Gradient (Gradiente)	Mette un gradiente di colore da grigio a bianco sullo sfondo dell'istogramma oppure rimuove il gradiente.
Copy Graph To Clipboard (Copia grafico negli appunti)	Mette una copia dell'istogramma selezionato (blu o rosso) negli appunti.

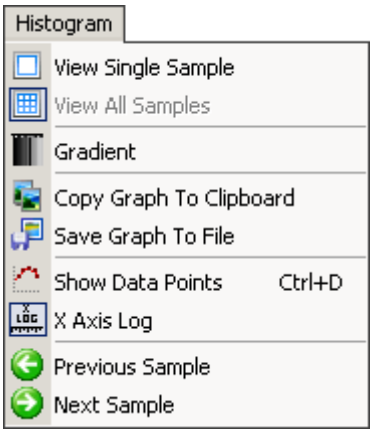
Voce del menu Histogram (Istogramma)	Funzione
Copy Graph To Clipboard (Copia grafico su file)	Apre una finestra di dialogo di sistema che consente di salvare l'istogramma selezionato (blu o rosso) come immagine in formato Windows Meta File (.wmf), Windows Bitmap (.bmp), o JPEG (.jpg).
Show Data Points (Mostra punti dei dati)	Mostra/nasconde i punti dei dati utilizzati per generare l'elettroferogramma selezionato.
X Axis Log (Asse X logaritmico)	Passa dalla scala dell'asse X lineare a quella logaritmica e viceversa.
Overlaid Samples (Campioni sovrapposti)	Consente di sovrapporre elettroferogrammi da campioni multipli (solo visualizzazione singola). Ogni istogramma sarà visualizzato in un colore differente e sopra il grafico apparirà una legenda dei colori. • *Sample 1...6* (Campioni da 1 a 6) seleziona un singolo campione da sovrapporre al campione attuale (che non è disponibile nel menu). • *No Overlay* (Non sovrapporre) annulla la sovrapposizione. • *All Samples* (Tutti i campioni) sovrappone tutti i campioni del chip.
Insert Marker (Inserisci marker)	Inserisce un marker nell'istogramma.

Voce del menu Histogram (Istogramma)	Funzione
Insert Marker into all histograms (Inserisci marker in tutti gli istogrammi)	Copia il marker selezionato in tutti gli altri istogrammi dell'analisi del chip (solo analisi generiche).
Insert Existing Marker (Inserisci marker esistente)	Apre la casella di dialogo *Insert Existing Markers (Inserisci marker esistenti)* (vedere la sezione *"Insert Existing Markers (Inserisci marker esistenti)" a pagina 642), che consente d'inserire nell'istogramma attuale un marker esistente su altri istogrammi della stessa analisi del chip.
Configure Marker (Configura marker)	Apre la casella di dialogo *Configure Marker (Configura marker)* (vedere la sezione *"Configure Marker (Configura marker)" a pagina 638), che consente di modificare le proprietà del marker selezionato (solo analisi generiche).
Delete Marker (Elimina marker)	Elimina il marker selezionato. Se il marker è utilizzato anche da altri istogrammi, apparirà un messaggio che richiede se si desidera rimuoverlo da tutti gli istogrammi che lo utilizzano o solo dall'istogramma attuale.
Gate in Red histogram (Filtro per istogramma rosso)	Utilizza il marker selezionato dell'istogramma blu per filtrare l'istogramma rosso (solo analisi generiche).

Voce del menu Histogram (Istogramma)	Funzione
Insert Gate into All Red histograms (Inserisci filtro in tutti gli istogrammi rossi)	Utilizza il marker selezionato dell'istogramma blu per filtrare l'istogramma rosso (solo analisi generiche).
Gate in blu histogram (Filtro per istogramma blu)	Utilizza il marker selezionato dell'istogramma rosso per filtrare l'istogramma blu (solo analisi generiche).
Insert Gate into All Blue histograms (Inserisci filtro in tutti gli istogrammi blu)	Utilizza il marker selezionato dell'istogramma rosso per filtrare tutti gli istogrammi blu (solo analisi generiche).
Remove Gate (Rimuovi filtro)	Elimina il filtro (solo dall'istogramma attuale).
Previous Sample (Campione precedente)	Evidenzia e visualizza l'istogramma del campione precedente. Non disponibile se viene evidenziato il primo campione.
Next Sample (Campione successivo)	Evidenzia e visualizza l'istogramma del campione successivo. Non disponibile se viene evidenziato il primo campione.

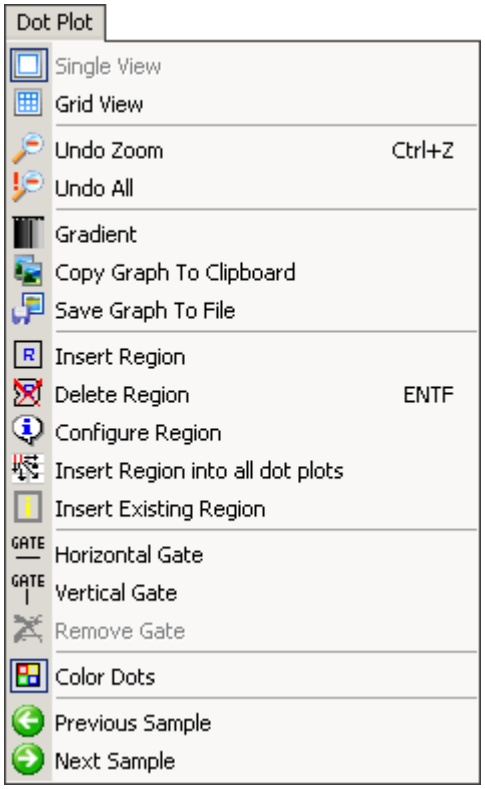
Grid View (Visualizzazione a griglia)

Nella visualizzazione a griglia, il menu *Histogram* (Istogramma) presenta i seguenti comandi, che funzionano nello stesso modo della visualizzazione singola (vedi sopra):



Menu Dot Plot

Single View (Visualizzazione singola)



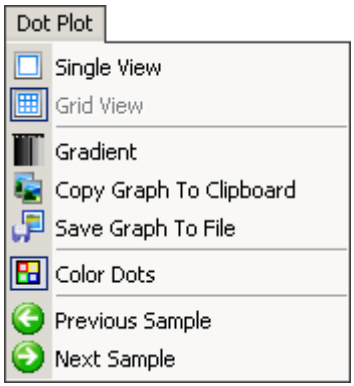
Voci del menu Dot Plot	Funzione
Single View (Visualizzazione singola)	Visualizza il dot-plot attuale in formato singolo.
Grid View (Visualizzazione a griglia)	Passa al formato di visualizzazione a griglia ed evidenzia il dot-plot attuale.
Undo Zoom (Annulla zoom)	Annulla l'ultima azione di zoom.
Undo All (Annulla tutti)	Annulla tutte le azioni di zoom.
Gradient (Gradiente)	Mette un gradiente di colore da grigio a bianco sullo sfondo del dot-plot oppure rimuove il gradiente.
Copy Graph To Clipboard (Copia grafico negli appunti)	Mette una copia del dot-plot selezionato negli appunti.
Copy Graph To File (Copia grafico su file)	Apre una finestra di dialogo di sistema che consente di salvare il dot-plot selezionato come immagine in formato Windows Meta File (.wmf), Windows Bitmap (.bmp), o JPEG (.jpg).

Voci del menu Dot Plot	Funzione
Insert Region (Inserisci area)	Entra nella modalità di disegno delle aree, consentendo di disegnare una nuova regione sul dot-plot. Il cursore del mouse diventa un puntatore a croce.
Delete Region (Elimina area)	Elimina l'area selezionata. Se l'area è utilizzata anche da altri dot-plot, apparirà un messaggio che richiede se si desidera rimuoverla da tutti i dot-plot che la utilizzano o solo dal dot-plot attuale.
Configure Region (Configura area)	Apre la casella di dialogo *Configure Region (Configura area)* (vedere la sezione *"Configure Region (Configura area)" a pagina 640*), che consente di modificare le proprietà di un'area selezionata (solo analisi generiche).
Insert Region into all dot plots (Inserisci area in tutti i dot-plot)	Copia l'area selezionata in tutti gli altri dot-plot dell'analisi del chip (solo analisi generiche).
Insert Existing Region (Inserisci area esistente)	Apre la casella di dialogo *Insert Existing Region (Inserisci area esistente)* (vedere la sezione *"Insert Existing Region (Inserisci area esistente)" a pagina 644*), che consente d'inserire nel dot-plot attuale un'area esistente su altri dot-plot della stessa analisi del chip (solo analisi generiche)
Horizontal Gate (Filtro orizzontale)	Inserisce un filtro orizzontale per la regione selezionata (solo analisi generiche).

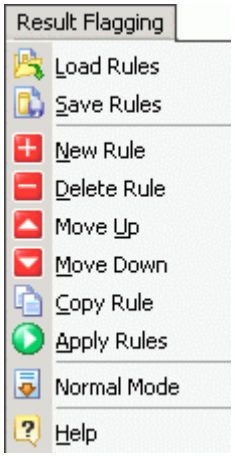
Voci del menu Dot Plot	Funzione
Vertical Gate (Filtro verticale)	Inserisce un filtro verticale per la regione selezionata (solo analisi generiche).
Remove Gate (Rimuovi filtro)	Rimuove il filtro.
Color Dots (Colora punti)	Colora i punti all'interno dell'area selezionata utilizzando il colore dei bordi dell'area.
Previous Sample (Campione precedente)	Evidenzia e visualizza il dot-plot del campione precedente. Non disponibile se viene evidenziato il primo campione.
Next Sample (Campione successivo)	Evidenzia e visualizza il dot-plot del campione successivo. Non disponibile se viene evidenziato il primo campione.

Grid View (Visualizzazione a griglia)

Nella visualizzazione a griglia, il menu *Dot-plot* presenta i seguenti comandi, che funzionano nello stesso modo della visualizzazione singola (vedi sopra):



Menu Result Flagging (Evidenziazione dei risultati) (solo analisi elettroforetiche)



Voci del Menu Result Flagging (Evidenziazione dei risultati)	Funzione
Load Rules (Carica regole)	Apre una finestra di dialogo di sistema che consente di caricare una serie di regole di evidenziazione dei risultati memorizzate in un file .xml.
Save Rules (Salva regole)	Apre una finestra di dialogo di sistema che consente di salvare le regole di evidenziazione dei risultati in un file .xml.
New Rule (Nuova regola)	Aggiunge una nuova regola.
Delete Rule (Elimina regola)	Elimina la regola selezionata.
Move Up (Sposta in alto)	Sposta in su di una riga la regola selezionata.
Move Down (Sposta in basso)	Sposta in giù di una riga la regola selezionata.
Copy Rule (Copia regola)	Inserisce una copia della regola selezionata.
Apply Rules (Applica regole)	Applica le regole di evidenziazione dei risultati ai dati del chip.
Normal Mode/Target Mode (Modalità normale/ obiettivo)	Passa dalla modalità *Normal* (Normale) alla modalità *Target* (Obiettivo) e viceversa.
Help (Guida in linea)	Apre la guida in linea sull'argomento evidenziazione dei risultati.

Menu Log Book (Registro)



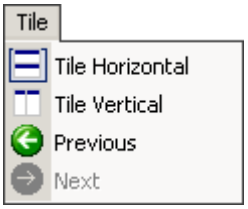
Voci del menu Log Book (Registro)	Funzione
Find (Trova)	Apre la casella di dialogo *Find* (Trova) che consente di ricercare una stringa nella tabella del file di registro.
Filter (Filtro)	Apre la casella di dialogo *Filter Events* (Filtra eventi) che consente di nascondere le voci della tabella del file di registro (righe) che soddisfano i criteri specificati.
Reset Filter (Azzera filtro)	Rimuove tutti i filtri applicati alla tabella del file di registro dell'analisi.

Menu Instrument (Strumento)



Voce del menu Instrument (Strumento)	Funzione
Start (Avvia)	Avvia l'analisi di un chip. Disponibile se il bioanalizzatore è pronto per eseguire un'analisi (il bioanalizzatore è connesso, è stato caricato un chip adatto ed il coperchio è chiuso), o se è stata selezionata un'analisi dimostrativa. Vedere la sezione "Avvio dell'analisi del chip" a pagina 81.
Stop (Interrompi)	Interrompe l'analisi del chip. Vedere la sezione "Interruzione dell'analisi di un chip" a pagina 86.

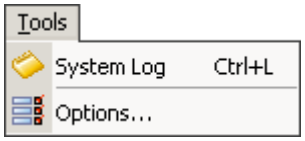
Menu Tile (Affianca)



Il menu *Tile* (Affianca) è disponibile se viene visualizzata la *Scheda Instrument (Strumento) (Visualizzazione a griglia)*:

Voce del menu Affianca	Funzione
Tile Horizontal (Affianca orizzontalmente)	Ordina orizzontalmente i riquadri dello strumento.
Tile Vertical (Affianca orizzontalmente)	Ordina verticalmente i riquadri dello strumento.
Previous (Precedente)	Evidenzia il riquadro dello strumento precedente.
Next (Successivo)	Evidenzia il riquadro dello strumento successivo.

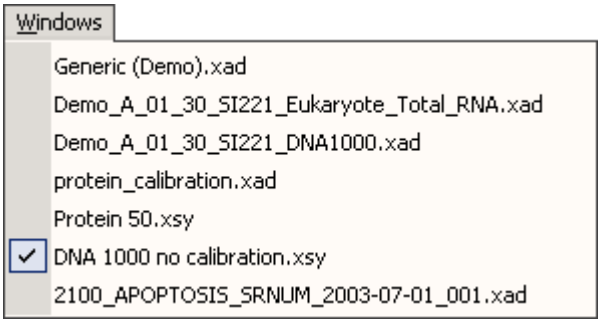
Menu Instruments (Strumenti)



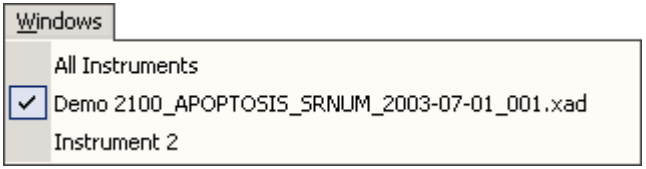
Voce del menu Instruments (Strumenti)	Funzione
System Log (Registro del sistema)	Apre la finestra di dialogo *System Log Viewer (Visualizzatore del registro di sistema)* che mostra eventi di tutto il sistema sulla tabella di registro del sistema.
Options... (Opzioni)	Apre la finestra di dialogo *Options* (Opzioni) che consente di configurare il software 2100 expert. Questa finestra di dialogo presenta le seguenti cartelle: • "Options – Data Files (Opzioni – File di dati)" a pagina 587 • "Options – Chip Alert (Opzioni – Avviso chip)" a pagina 590 • "Options – Graph Settings (Opzioni – Impostazioni grafiche)" a pagina 592 • "Options – Advanced (Opzioni – Avanzate)" a pagina 594

Menu Windows (Finestre)

Nel contesto *Data and Assay* (Dati e analisi), il menu *Windows* (Finestre) consente di passare da uno all'altro tra i file di dati del chip (.xad) e di analisi (.xsy):

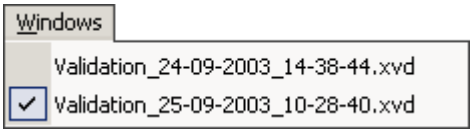


Nel contesto *Instrument* (Strumento), il menu *Windows* consente di passare dalla visualizzazione a griglia dello strumento *(All Instruments)* alla visualizzazione di tutti gli strumenti rilevati e viceversa.



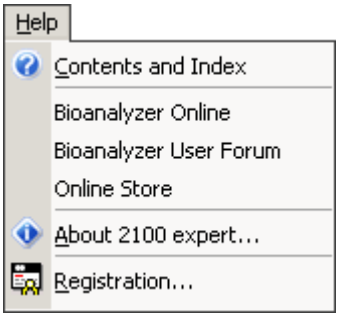
Se un'analisi risulta già selezionata per uno strumento, al posto dello strumento viene visualizzato il nome dell'analisi.

Nel contesto *Validation* (Validazione), il menu *Windows* (Finestre) consente di passare da uno all'altro di tutti i file dei risultati di validazione aperti (.xvd):



Se un'analisi risulta già selezionata per uno strumento, al posto dello strumento viene visualizzato il nome dell'analisi.

Menu Help (Guida in linea)



Voce del menu Help (Guida in linea)	Funzione
Contents and Index (Contenuto ed indice)	Apre la pagina iniziale della Guida in linea del *Bioanalizzatore 2100 Agilent*.
Bioanalyzer Online (Bioanalizzatore in linea)	Porta alle pagine web *Lab-on-a-Chip Products* (richiesta connessione a Internet).

Voce del menu Help (Guida in linea)	Funzione
Bioanalyzer User Forum (Forum utenti Bionalizzatore)	Porta al forum *Life Sciences/Chemical Analysis User Forum* (richiesta connessione Internet e registrazione).
Online Store (Acquisti online)	Porta alla pagina del *Life Sciences/Chemical Analysis Online Store* (richiesta connessione Internet).
About 2100 expert... (Informazioni su 2100 expert)	Visualizza la finestra di dialogo *About (Informazioni su) 2100 Expert*, che mostra informazioni relative al sistema e la versione del software. Vedere la sezione "About (Informazioni su) 2100 Expert" a pagina 583.
Registration... (Registrazione)	Apre la finestra di dialogo *License Administration Tool* (Strumento di amministrazione licenza), che consente di registrare i componenti del software di cui si possiede la licenza.

Barre degli strumenti

Le barre degli strumenti sono situate sotto la barra del menu e forniscono rapido accesso a funzioni richieste frequentemente.

SUGGERIMENTO

Spostare il cursore del mouse su un pulsante della barra degli strumenti ed attendere un momento. Sarà visualizzata una descrizione del comando che descrive brevemente la sua funzione.



Se un pulsante della barra degli strumenti risulta sbiadito significa che la sua funzione non è disponibile in quel momento.

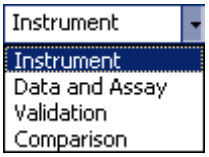
Le barre degli strumenti variano fortemente in base al contesto e a ciò che è selezionato in un dato momento.

- "Barra degli strumenti del contesto Instrument (Strumento)" a pagina 431
- "Contesto Data and Assay (Dati e analisi) - Barra degli strumenti Electropheresis (Elettroforesi)" a pagina 432
- "Contesto Data and Assay (Dati e analisi) - Barra degli strumenti Flow Cytometry (Citometria a flusso)" a pagina 441
- "Contesto Data and Assay (Dati e analisi) - Barra degli strumenti Result Flagging (Evidenziazione dei risultati)" a pagina 447

- "Contesto Data and Assay (Dati e analisi) - Barra degli strumenti Log Book (Registro)" a pagina 448
- "Barra degli strumenti del contesto Validation (Validazione)" a pagina 449
- "Barra degli strumenti del contesto Comparison (Confronto)" a pagina 450

Barra degli strumenti del contesto Instrument (Strumento)

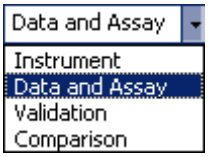


Pulsante	Funzione
	Selezionare una voce da questo elenco per passare ad un altro contesto.
	Apre la finestra di dialogo *Open (Apri)*, che consente di caricare un file di dati del chip (.xad) o d'analisi (.xsy).
	Mostra o nasconde il *Pannello della struttura ad albero*.
	Visualizza la *Scheda Instrument (Strumento) (Visualizzazione singola)* dello strumento selezionato.
	Visualizza la *Scheda Instrument (Strumento) (Visualizzazione a griglia)*:
	Ordina orizzontalmente i riquadri dello strumento.

Pulsante	Funzione
	Ordina verticalmente i riquadri dello strumento.
	Evidenzia il riquadro dello strumento precedente.
	Evidenzia il riquadro dello strumento successivo.

Contesto Data and Assay (Dati e analisi) - Barra degli strumenti Electropheresis (Elettroforesi)



Pulsante	Funzione
	Selezionare una voce da questo elenco per passare ad un altro contesto.
	Apre la finestra di dialogo *Open (Apri)* che consente di caricare file di dati del chip e di analisi.
	Salva il file di dati del chip o d'analisi attuale.

Pulsante	Funzione
	Apre la casella di dialogo *Print* (Stampa), che consente di inviare dati del chip e dell'analisi alla stampante. Vedere la sezione "Print (Stampa) (Elettroforesi)" a pagina 622 e "Print (Stampa) (Citometria a flusso)" a pagina 618.
	Mostra o nasconde il *Pannello della struttura ad albero*.
	Mostra o nasconde il *Pannello inferiore* con l'icona del chip o l'immagine di sovrapposizione del gel.
	Passa alla visualizzazione del gel, vedere la sezione "Scheda Gel" a pagina 509.
	Passa alla visualizzazione dell'elettroferogramma, vedere la sezione "Scheda Electropherogram (Single/Grid View) (Elettroferogramma (Visualizzazione singola/griglia))" a pagina 526.



	Avvia l'analisi automatica. Vengono rilevati i picchi e viene calcolata la Peak Table (Tabella dei picchi). I risultati vengono ricalcolati ogni volta che vengono applicate modifiche alle impostazioni dell'analisi dei dati.
	Mette in pausa l'analisi automatica. Si consiglia di mettere in pausa l'analisi durante l'integrazione manuale.
	L'analisi viene disattivata. I dati grezzi vengono visualizzati nella scheda *Gel* e la *Peak Table* (Tabella dei picchi) viene cancellata.
	Evidenzia e visualizza il grafico a gel del campione precedente. Se viene evidenziato lo standard, si viene reindirizzati all'ultimo campione. Non disponibile se viene evidenziato il primo campione.
	Evidenzia e visualizza il grafico a gel del campione successivo. Se viene evidenziato l'ultimo campione, si viene reindirizzati allo standard. Non disponibile se viene evidenziato lo standard.
	Annulla l'ultima azione di zoom, panoramica o ridimensionamento.
	Annulla tutte le azioni di zoom, pan e ridimensionamento.
	Mette una copia del grafico del gel (di tutti i campioni) negli appunti.



Apre una finestra di dialogo di sistema che consente di salvare il grafico del gel (tutti i campioni) come immagine in formato JPEG (.jpg), Windows Bitmap (.bmp) o Tagged Image File (.tif).



Apre un sottomenu da cui è possibile selezionare uno schema di colori predefinito per il primo piano/sfondo da utilizzare per la visualizzazione del grafico del gel (tutte le corsie). I colori sono studiati per approssimarsi ai colori reali dei vari coloranti e tecniche d'immagine del gel. *Blue on White* (Blu su bianco) per esempio, simula un gel Coomassie, spesso utilizzato per le proteine.



Apre un sottomenu da cui è possibile selezionare una delle seguenti modalità:

Apre un sottomenu da cui è possibile selezionare una delle seguenti modalità:

- *Individual Scale* (Scala singola)

  Ogni corsia utilizza la propria scala che è ottimizzata per quella corsia.

- *Selected Scale* (Scala selezionata)

  Tutte le corsie utilizzano la stessa scala che è ottimizzata per la corsia selezionata.

- *Global Scale* (Scala generale)

- Tutte le corsie utilizzano la stessa scala.



	Avvia l'analisi automatica. Vengono rilevati i picchi e viene calcolata la *Peak Table* (Tabella dei picchi). I risultati vengono ricalcolati ogni volta che vengono applicate modifiche alle impostazioni dell'analisi dei dati.
	Mette in pausa l'analisi automatica. Si consiglia di mettere in pausa l'analisi durante l'integrazione manuale.
	L'analisi viene disattivata. I dati grezzi vengono visualizzati nella scheda *Electropherogram* (Elettroferogramma) e la *Peak Table* viene cancellata.
	Evidenzia e visualizza l'elettroferogramma del campione precedente. Se viene evidenziato lo standard, si viene reindirizzati all'ultimo campione. Non disponibile se viene evidenziato il primo campione.
	Evidenzia e visualizza l'elettroferogramma del campione successivo. Se viene evidenziato l'ultimo campione, si viene reindirizzati allo standard. Non disponibile se viene evidenziato lo standard.
	Visualizza l'elettroferogramma attuale in formato singolo.
	Passa al formato di visualizzazione multipozzetto ed evidenzia l'elettroferogramma attuale.
	Annulla l'ultima azione di zoom, panoramica o ridimensionamento.



Annulla tutte le azioni di zoom, pan e ridimensionamento.



Consente di selezionare una delle seguenti modalità di adattamento:

- *Individual Scale* (Scala singola)

  Ogni grafico utilizza la propria scala che è ottimizzata per quel grafico.

- *Selected Scale* (Scala selezionata)

  Tutte i grafici utilizzano la stessa scala che è ottimizzata per il grafico selezionato.

- *Global Scale* (Scala generale) (solo con visualizzazione a griglia).

  Tutti i grafici utilizzano la stessa scala che è scelta in modo che tutti gli elettroferogrammi siano compresi nella visualizzazione.



Consente di selezionare una delle seguenti operazioni di trascinamento sull'elettroferogramma:

- *Zoom*

  Ingrandisce a tutto schermo l'area corrispondente.

- *Pan* (Panoramica)

  Sposta il grafico, ed è utile in particolare per grafici dove è già stato eseguito lo zoom.

- *Scale* (Scala)

  Trascinando a sinistra o in basso riduce la visualizzazione in quella direzione, trascinando a destra o in alto ingrandisce la visualizzazione in quella direzione.



Quando questa opzione è abilitata, tutte le operazioni di zoom, panoramica e ridimensionamento hanno effetto su tutti gli elettroferogrammi.



Mostra/nasconde i punti dei dati utilizzati per generare un elettroferogramma. I punti dei dati sono visibili solo nella visualizzazione singola. I punti dei dati distano tra di loro 0,05 secondi dato che la risoluzione del tempo dei punti dei dati è 0,05 secondi, che corrisponde alla loro velocità d'acquisizione (20 Hz).



Mostra/nasconde le linee della griglia (solo visualizzazione singola).



Mette una copia dell'elettroferogramma negli appunti (solo visualizzazione singola). Nella visualizzazione multipozzetto vengono copiati tutti gli elettroferogrammi.



Apre una finestra di dialogo di sistema che consente di salvare l'elettroferogramma (visualizzazione singola) o tutti gli elettroferogrammi (visualizzazione multipozzetto) come immagine in formato JPEG (.jpg), Windows Bitmap (.bmp), Windows Meta File (.wmf), CompuServe Graphics Interchange (.gif), o Tagged Image File (.tif).



Passa alla modalità d'integrazione manuale dei picchi. Disponibili solo per le analisi DNA e Proteina

In questa modalità è possibile:

- Modificare i punti iniziale e finale della linea di base di un determinato picco.
- Aggiungere o eliminare determinati picchi dall'integrazione.

Vedere anche la sezione “Manual Integration (Integrazione manuale)” a pagina 156.



Passa alla modalità d'integrazione automatica (tutte le integrazioni manuali andranno perse). Disponibili solo per le analisi DNA e Proteina

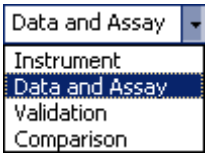


Consente di scegliere il tipo di etichetta del picco da visualizzare sull'elettroferogramma. Le etichette sono visibili solo in modalità singolo pozzetto e se la Scheda secondaria *Peak Table* (Tabella dei picchi) è selezionata.

Overlaid Samples	Consente di sovrapporre elettroferogrammi da pozzetti multipli (solo visualizzazione singola). Ogni elettroferogramma sarà visualizzato in un colore differente ed apparirà una legenda dei colori sulla Scheda secondaria *Legend* (Legenda). • *Sample 1...12* (Campioni da 1 a 12) seleziona un singolo campione da sovrapporre al campione attuale (che viene visualizzato in grigio). • *Ladder* (Standard) sovrappone l'elettroferogramma del pozzetto dello standard. • *No Overlay* (Non sovrapporre) annulla la sovrapposizione. • *All Samples* (Tutti i campioni) sovrappone tutti i campioni del chip. La sovrapposizione dei campioni può essere effettuata anche facendo clic tenendo premuto CTRL o MAIUSC sulla corsia del gel nel pannello inferiore (vedere la sezione "Pannello inferiore" a pagina 465).

Contesto Data and Assay (Dati e analisi) - Barra degli strumenti Flow Cytometry (Citometria a flusso)



Pulsante	Funzione
	Selezionare una voce da questo elenco per passare ad un altro contesto.
	Apre la finestra di dialogo *Open (Apri)* che consente di caricare file di dati del chip e di analisi.
	Salva il file di dati del chip o d'analisi attuale.
	Apre la casella di dialogo *Print* (Stampa), che consente di inviare dati del chip e dell'analisi alla stampante. Vedere la sezione "Print (Stampa) (Elettroforesi)" a pagina 622 e "Print (Stampa) (Citometria a flusso)" a pagina 618.
	Mostra o nasconde il *Pannello della struttura ad albero*.
	Mostra o nasconde il *Pannello inferiore* con l'icona del chip o l'immagine di sovrapposizione del gel.

Pulsante	Funzione
	Passa alla visualizzazione dell'elettroferogramma, vedere la sezione "Scheda Histogram (Single/Grid View) (Istogramma (Visualizzazione singola/a griglia))" a pagina 540.
	Passa alla visualizzazione del dot-plot, vedere la sezione "Scheda Dot-Plot (Single/Grid view) (Visualizzazione singola/a griglia)" a pagina 550.

Histogram View (Visualizzazione istogramma)



	Visualizza l'istogramma attuale in formato singolo.
	Passa al formato di visualizzazione a griglia ed evidenzia l'istogramma attuale.
	Annulla l'ultima azione di zoom.
	Annulla tutte le azioni di zoom.
	Adatta le scale degli assi X ed Y a tutti gli istogrammi sovrapposti. Tutte le curve saranno visibili completamente negli istogrammi sovrapposti.
	Mette una copia dell'istogramma selezionato (blu o rosso) negli appunti.



Apre una finestra di dialogo di sistema che consente di salvare l'istogramma selezionato (blu o rosso) come immagine in formato Windows Meta File (.wmf), Windows Bitmap (.bmp), o JPEG (.jpg).



Passa dalla scala dell'asse X lineare a quella logaritmica e viceversa.

Overlaid Samples

Consente di sovrapporre elettroferogrammi da campioni multipli (solo visualizzazione singola). Ogni istogramma sarà visualizzato in un colore differente e sopra il grafico apparirà una legenda dei colori.

- *Sample 1...6* (Campioni da 1 a 6) seleziona un singolo campione da sovrapporre al campione attuale (che non è disponibile nel menu).
- *No Overlay* (Non sovrapporre) annulla la sovrapposizione.
- *All Samples* (Tutti i campioni) sovrappone tutti i campioni del chip.



Inserisce un marker nell'istogramma.



Copia il marker selezionato in tutti gli altri istogrammi dell'analisi del chip (solo analisi generiche).



Apre la casella di dialogo *Insert Existing Markers (Inserisci marker esistenti)* (vedere la sezione "Insert Existing Markers (Inserisci marker esistenti)" a pagina 642), che consente d'inserire nell'istogramma attuale un marker esistente su altri istogrammi della stessa analisi del chip.

	Apre la casella di dialogo *Configure Marker (Configura marker)* (vedere la sezione *"*Configure Marker (Configura marker)" a pagina 638), che consente di modificare le proprietà del marker selezionato (solo analisi generiche).
	Elimina il marker selezionato. Se il marker è utilizzato anche da altri istogrammi, apparirà un messaggio che richiede se si desidera rimuoverlo da tutti gli istogrammi che lo utilizzano o solo dall'istogramma attuale.
	Utilizza il marker selezionato dell'istogramma blu per filtrare l'istogramma rosso (solo analisi generiche).
	Utilizza il marker selezionato dell'istogramma blu per filtrare l'istogramma rosso (solo analisi generiche).
	Utilizza il marker selezionato dell'istogramma rosso per filtrare l'istogramma blu (solo analisi generiche).
	Utilizza il marker selezionato dell'istogramma rosso per filtrare tutti gli istogrammi blu (solo analisi generiche).
	Rimuove il filtro (solo dall'istogramma attuale).
	Evidenzia e visualizza l'istogramma del campione precedente. Non disponibile se viene evidenziato il primo campione.
	Evidenzia e visualizza l'istogramma del campione successivo. Non disponibile se viene evidenziato il primo campione.



	Visualizza il dot-plot attuale in formato singolo.
	Passa al formato di visualizzazione a griglia ed evidenzia il dot-plot attuale.
	Annulla l'ultima azione di zoom.
	Annulla tutte le azioni di zoom.
	Mette una copia del dot-plot selezionato negli appunti.
	Apre una finestra di dialogo di sistema che consente di salvare il dot-plot selezionato come immagine in formato Windows Meta File (.wmf), Windows Bitmap (.bmp), o JPEG (.jpg).
	Entra nella modalità di disegno delle aree, consentendo di disegnare una nuova regione sul dot-plot. Il cursore del mouse diventa un puntatore a croce.
	Elimina l'area selezionata. Se l'area è utilizzata anche da altri dot-plot, apparirà un messaggio che richiede se si desidera rimuoverla da tutti i dot-plot che la utilizzano o solo dal dot-plot attuale.

	Apre la casella di dialogo *Configure Region (Configura area)* (vedere la sezione *"Configure Region (Configura area)"* a pagina 640), che consente di modificare le proprietà di un'area selezionata (solo analisi generiche).
	Copia l'area selezionata in tutti gli altri dot-plot dell'analisi del chip (solo analisi generiche).
	Apre la casella di dialogo *Insert Existing Region (Inserisci area esistente)* (vedere la sezione *"Insert Existing Region (Inserisci area esistente)"* a pagina 644), che consente d'inserire nel dot-plot attuale un'area esistente su altri dot-plot della stessa analisi del chip (solo analisi generiche)
	Inserisce un filtro orizzontale per la regione selezionata (solo analisi generiche).
	Inserisce un filtro verticale per la regione selezionata (solo analisi generiche).
	Rimuove il filtro.
	Colora i punti all'interno dell'area selezionata utilizzando il colore dei bordi dell'area.
	Evidenzia e visualizza il dot-plot del campione precedente. Non disponibile se viene evidenziato il primo campione.
	Evidenzia e visualizza il dot-plot del campione successivo. Non disponibile se viene evidenziato il primo campione.

Contesto Data and Assay (Dati e analisi) - Barra degli strumenti Result Flagging (Evidenziazione dei risultati)



Pulsante	Funzione
	Apre una finestra di dialogo di sistema che consente di caricare una serie di regole di evidenziazione dei risultati memorizzate in un file .xml).
	Apre una finestra di dialogo di sistema che consente di salvare le regole di evidenziazione dei risultati in un file .xml).
	Aggiunge una nuova regola.
	Elimina la regola selezionata.
	Sposta in su di una riga la regola selezionata.
	Sposta in giù di una riga la regola selezionata.
	Inserisce una copia della regola selezionata.
	Valida le regole di evidenziazione dei risultati e li applica ai dati del chip (se presenti).
	Passa dalla modalità *Normal* (Normale) alla modalità *Target* (Obiettivo) e viceversa.
	Apre la guida in linea sull'argomento evidenziazione dei risultati.

Contesto Data and Assay (Dati e analisi) - Barra degli strumenti Log Book (Registro)

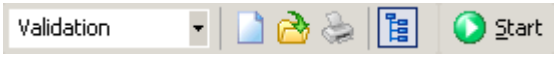


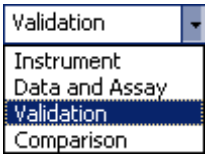
Pulsante	Funzione
	Apre la casella di dialogo *Find* (Trova) che consente di ricercare una stringa nella tabella del file di registro.
	Apre la casella di dialogo *Filter Events* (Filtra eventi) che consente di nascondere le voci della tabella del file di registro (righe) che soddisfano i criteri specificati.
	Rimuove tutti i filtri applicati alla tabella del file di registro dell'analisi.

NOTA

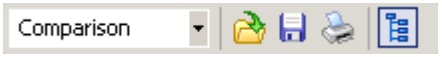
La barra degli strumenti *Log Book* (Registro) è disponibile anche nella finestra di dialogo *System Log Viewer* (Visualizzatore file di registro). Vedere la sezione "System Log Viewer (Visualizzatore del registro di sistema)" a pagina 656.

Barra degli strumenti del contesto Validation (Validazione)



Pulsante	Funzione
	Selezionare una voce da questo elenco per passare ad un altro contesto.
	Inizia una nuova validazione ed inserisce una voce *New Validation* (Nuova validazione) nella struttura ad albero.
	Visualizza una finestra di dialogo del sistema che consente di aprire un file dei risultati di validazione (.xvd).
	Visualizza la *Print (Stampa) (Validazione)* finestra di dialogo che consente di generare vari report dei test di qualificazione. Vedere la sezione "Print (Stampa) (Validazione)" a pagina 626.
	Mostra o nasconde il *Pannello della struttura ad albero*.
	Avvia un'analisi di validazione. Disponibile solo se è stato selezionato per l'esecuzione almeno un test di qualificazione.
	Interrompe il test di qualificazione che è attualmente in corso. I test già completati non vengono coinvolti.

Barra degli strumenti del contesto Comparison (Confronto)



Pulsante	Funzione
	Selezionare una voce da questo elenco per passare ad un altro contesto.
	Apre una finestra di dialogo che consente di aprire un file di confronto (.xac) o dei dati del chip (.xad).
	Salva il file di confronto attuale.
	Visualizza la*Print (Stampa) (Confronto)* finestra di dialogo che consente di stampare un report del confronto. Vedere la sezione "Print (Stampa) (Confronto)" a pagina 629.
	Mostra o nasconde il *Pannello della struttura ad albero*.

NOTA

Se nel contesto confronto è selezionato un campione, saranno disponibili anche le barre degli strumenti *Gel* o *Electropherogram* (Elettroferogramma). Vedere la sezione "Contesto Data and Assay (Dati e analisi) - Barra degli strumenti Electropheresis (Elettroforesi)" a pagina 432.

Barra delle informazioni

La barra delle informazioni è posizionata sotto la barra degli strumenti.

Contesto Instrument (Strumento)

Se non è in corso l'analisi del chip, la barra delle informazioni mostra il nome del bioanalizzatore (o "Demo" se è selezionata la porta COM *Demo*) seguita dalla classe di analisi selezionata:



Durante l'analisi del chip inoltre, la barra delle informazioni mostra il messaggio "Running" (in corso) ed il simbolo di un chip con un numero lampeggiante (numero del campione attualmente misurato):



Dopo l'analisi del chip, possono apparire messaggi come "Run aborted by user" (Analisi abortita dall'utente), oppure "Run complete" (Analisi completa).

Quando viene visualizzato il messaggio "Invalid Configuration Selected" (Configurazione selezionata non valida), alla *porta COM* selezionata non è stato rilevato un bioanalizzatore, oppure il chip inserito non è adatto alla *Assay Selection* (Selezione analisi):



Se il software 2100 expert rileva un errore, viene visualizzato un messaggio sulla *Barra delle informazioni*:



Fare clic sul testo del messaggio di errore per avere un aiuto relativo al messaggio.

Contesto Data and Assays (Dati e analisi)

Quando vengono selezionate le cartelle *Gel*, *Electropherogram, Histogram* o *Dot Plot*, viene visualizzato il nome della scheda seguito dal nome del campione (in visualizzazione singola) o da "All Samples" (Tutti i campioni" (in visualizzazione a griglia)). Nella parte destra della barra viene visualizzato il simbolo di un chip con il numero del campione attuale.



Quando viene caricato un file di dati di un chip citometrico o un file di analisi, viene visualizzata anche la direzione del filtro (da blu a rosso o da rosso a blu):



Contesto Validation (Validazione)

Quando viene creata una nuova voce di validazione, la barra delle informazioni ha l'aspetto seguente:



Durante il corso di una validazione, il nome del file dei risultati di validazione viene visualizzato sul lato sinistro della barra. Sulla destra viene visualizzato il nome del test attualmente in corso:



Al termine della validazione, la barra delle informazioni ha l'aspetto seguente:



Quando si interrompe un validazione, la barra delle informazioni ha l'aspetto seguente:



Riaprendo un file dei risultati di validazione non è possibile effettuare modifiche. Questo viene indicato sulla barra delle informazioni.



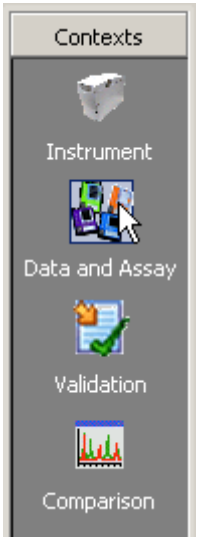
Contesto Comparison (Confronto)

Quando vengono selezionate le cartelle *Gel* o *Electropherogram* (Elettroferogramma), viene visualizzato il nome della scheda seguito dal nome del campione selezionato:



Barra del contesto

La barra del contesto è situata sulla sinistra della finestra dell'applicazione.



Facendo clic sulle icone della barra del contesto è possibile passare da un contesto all'altro:

- Contesto Instrument (Strumento) (vedere la sezione "Contesto Instrument (Strumento)" a pagina 38)
- Contesto Data and Assay (Dati e analisi) (vedere la sezione "Contesto Data and Assay (Dati e analisi)" a pagina 40)
- Contesto Validation (Validazione) (vedere la sezione "Contesto Validation (Validazione)" a pagina 41)
- Contesto Comparison (Confronto) (vedere la sezione "Contesto Comparison (Confronto)" a pagina 43)

SUGGERIMENTO

Per avere più spazio nell'area di lavoro è possibile nascondere la barra del contesto selezionando *View* > *Context Bar* (Visualizza > Barra contesto).

Pannello della struttura ad albero

Il pannello della struttura ad albero è situato sulla sinistra della finestra dell'applicazione.

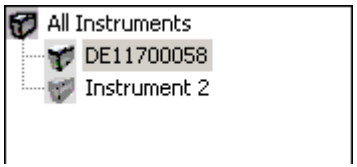
SUGGERIMENTO

Per avere più spazio nell'area di lavoro è possibile nascondere il pannello della struttura ad albero selezionando *View* > *Tree View* (Visualizza > Struttura ad albero).

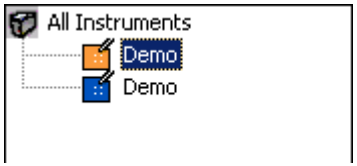
Contesto Instrument (Strumento)

Nel contesto *Instrument* (Strumento), la struttura ad albero mostra tutti gli strumenti rilevati.

Quando uno strumento viene rilevato, viene visualizzato il suo numero di serie:

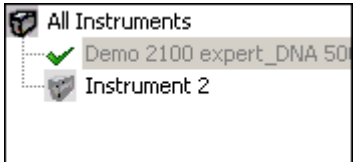


Se nello strumento viene rilevato un chip, davanti alla voce viene visualizzata l'icona di un chip che ne identifica il tipo. Se come *COM Port* (Porta COM) si seleziona "Demo", la voce viene etichettata come "Demo".

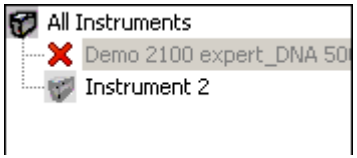


Se è stata selezionata un'analisi da eseguire sullo strumento, oppure mentre è in corso l'analisi o una demo, la voce sarà etichettata con il nome del file di dati del chip (.xad).

Al termine dell'analisi viene visualizzato un segno di spunta di colore verde:



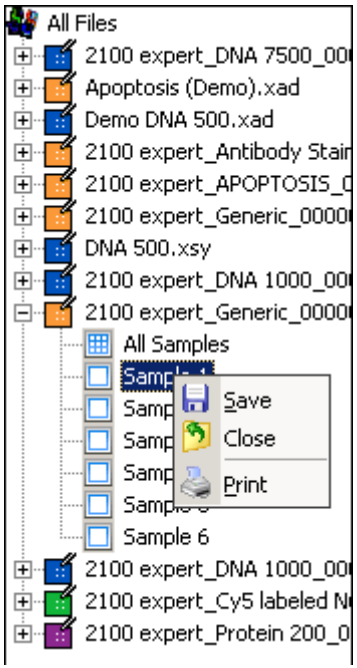
Se invece l'analisi è stata abortita oppure è avvenuto un errore, viene visualizzata una croce rossa:



- Facendo clic su *All Instruments* (Tutti gli strumenti) si viene portati alla *Scheda Instrument (Strumento) (Visualizzazione a griglia)*.
- Facendo clic sulla voce di uno strumento si viene portati alla *Scheda Instrument (Strumento) (Visualizzazione singola)*.

Contesto Data and Assay (Dati e analisi)

Nel contesto *Data and Assay* (Dati e analisi) è possibile utilizzare la struttura ad albero per navigare tra tutti i file di dati del chip (.xad) o di analisi (.xsy) aperti.



NOTA

Anche i file .xad che sono stati aperti nel contesto *Comparison* (Confronto) appaiono sulla struttura ad albero.

I colori delle icone dei chip che appaiono accanto ai nomi dei file identificano il tipo di analisi: blu = DNA, verde = RNA, violetto = proteina, arancio = citometria a flusso.

- Facendo clic sul segno più o meno accanto all'icona del chip si espande o riduce l'elenco dei campioni.
- Facendo clic su una voce dei dati del chip o di analisi viene visualizzata la *Scheda Chip Summary (Riepilogo chip)*.
- Facendo clic sulla voce *All Samples* (Tutti i campioni) si visualizza il formato a griglia con immagini gel-simile, elettroferogrammi, istogrammi o dot-plot di tutti i campioni.
- Facendo clic sulla voce di un campione (o sullo standard) visualizza l'immagine gel-simile, l'elettroferogramma (vista singola), l'istogramma (vista singola), o il dot-plot (vista singola) di questo campione.

La struttura ad albero fornisce un menu del contesto apribile facendo clic con il pulsante destro su una voce qualsiasi della struttura ad albero. Sono disponibili le seguenti funzioni:

Voce del menu	Funzione
Save (Salva)	Salva il file di dati del chip o d'analisi selezionato con il suo nome attuale.
Close (Chiudi)	Chiude il file di dati del chip o d'analisi selezionato.
Print... (Stampa)	Visualizza la finestra di dialogo *Print* (Stampa) che consente di generare diverse stampe dei file dei dati del chip o di analisi. Vedere la sezione "Print (Stampa) (Citometria a flusso)" a pagina 618 e"Print (Stampa) (Elettroforesi)" a pagina 622 .

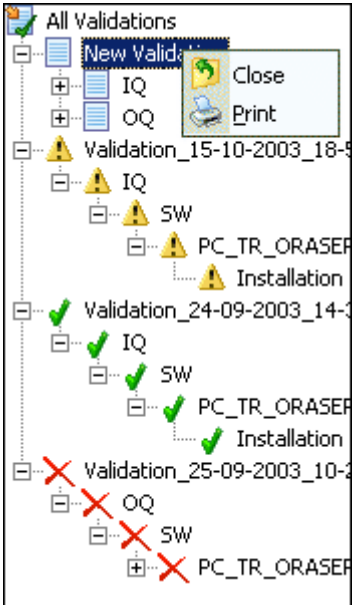
Contesto Validation (Validazione)

Nel contesto *Validation* (Validazione) è possibile utilizzare la struttura ad albero per:

- Navigare tra i file dei risultati di validazione.

  Facendo clic sul segno più o meno accanto all'icona del chip si espande o riduce l'elenco dei campioni.

- Navigare tra le categorie dei test di validazione (IQ o OQ, software o hardware) ed i test.



I simboli hanno il seguente significato:

- I simboli a forma di documento azzurro indicano che il test di qualificazione non è ancora stato eseguito.
- I segni di spunta verdi indicano i test passati.

- Le croci rosse indicano test falliti o abortiti.
- I triangoli di avviso di colore giallo indicano risultati misti dopo esecuzioni multiple.

NOTA

Le voci "ereditano" il simbolo (stato) dei loro "figlio/i". Per esempio, se un test singolo fallisce, l'intera validazione sarà indicata con una croce rossa (fallito).

Facendo clic con il pulsante destro viene visualizzato un menu del contesto. Sono disponibili le seguenti funzioni:

Voce del menu	Funzione
Close (Chiudi)	Chiude il file dei risultati di validazione selezionato.
Print... (Stampa)	Visualizza la finestra di dialogo *Print* che consente di stampare un report della validazione. Vedere la sezione "Print (Stampa) (Validazione)" a pagina 626.

Contesto Comparison (Confronto)

Nel contesto *Comparison* (Confronto) la struttura ad albero è divisa in due parti.

Nella parte *superiore* è possibile:

- Navigare tra i file di confronto (.xac).
- Navigare tra i campioni (appartenenti al file di confronto).
- Rimuovere campioni dai file di confronto.

Nella parte inferiore (area *Select Data Files* (Seleziona file di dati)), è possibile:

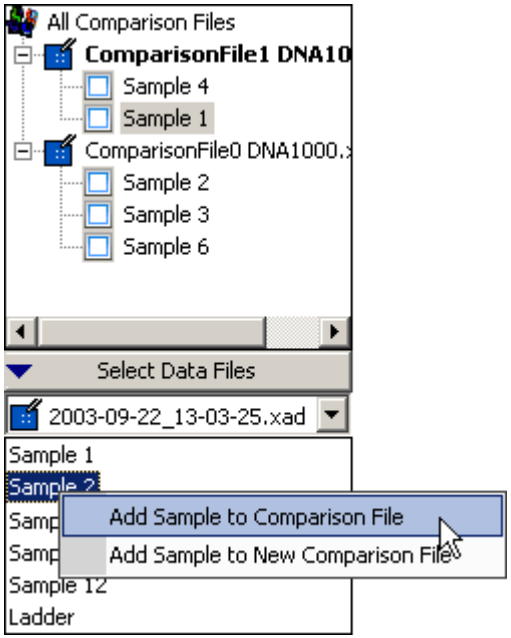
- Selezionare un file di dati del chip (.xad).

  L'elenco *Select Data Files* (Seleziona file di dati) contiene tutti i file elettroforetici .xad che sono stati aperti utilizzando il comando *File* > *Open...* (File > Apri).

NOTA

L'elenco *Select Data Files* (Seleziona file di dati) contiene anche tutti i file elettroforetici .xad che sono aperti nel contesto *Data and Assay* (Dati e analisi).

- Navigare tra i campioni del file di dati del chip.
- Aggiungere campioni a file di confronto nuovi o esistenti.



Sia la parte superiore che quella inferiore forniscono i menu dei contesti.

Nella parte *superiore* della struttura ad albero, facendo clic con il pulsante destro su un file .xac apre un menu del contesto con le seguenti funzioni

Voce del menu	Funzione
Save (Salva)	Salva il file di confronto selezionato con il suo nome attuale.
Close (Chiudi)	Chiude il file di confronto selezionato.
Print... (Stampa)	Visualizza la finestra di dialogo *Print* (Stampa) che consente di generare diverse stampe del file di confronto selezionato. Vedere la sezione "Print (Stampa) (Confronto)" a pagina 629.

Quando si fa clic con il pulsante destro sul nome di un campione nella parte *superiore* della struttura ad albero, il menu del contesto presenta i seguenti comandi:

Voce del menu	Funzione
Delete Sample from Comparison File (Elimina campione dal file di confronto)	Rimuove il file selezionato dal file di confronto.

Nella parte *inferiore* della struttura ad albero, facendo clic con il pulsante destro sul nome di un campione apre un menu del contesto con le seguenti funzioni:

Voce del menu	Funzione
Add Sample to Comparison File (Aggiungi campione a file di confronto)	Aggiunge il campione selezionato al file di confronto attualmente selezionato nella parte *superiore* della struttura ad albero.
Add Sample to New Comparison File (Aggiungi campione a nuovo file di confronto)	Crea un nuovo file di confronto e vi aggiunge il campione selezionato.

SUGGERIMENTO

Facendo doppio clic sul nome di un campione nella parte *inferiore* della struttura ad albero o trascinando il nome di un campione nella struttura ad albero, si può aggiungere il campione corrispondente al file di confronto attualmente selezionato nella parte *superiore* della struttura ad albero. Oppure, se non viene selezionato un file, crea un nuovo file di confronto ed aggiunge ad esso il campione.

Pannello inferiore

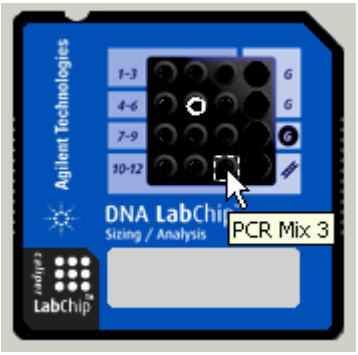
Il pannello inferiore è situato nell'angolo in basso a sinistra della finestra dell'applicazione. È disponibile nel contesto *Data and Assay* (Dati ed analisi), dove può essere utilizzato per navigare tra i campioni.

SUGGERIMENTO

Per avere più spazio sullo schermo per il *Pannello della struttura ad albero*, il pannello inferiore può essere nascosto selezionando *View* > *Lower Panel* (Visualizza > Pannello inferiore).

Icona del chip

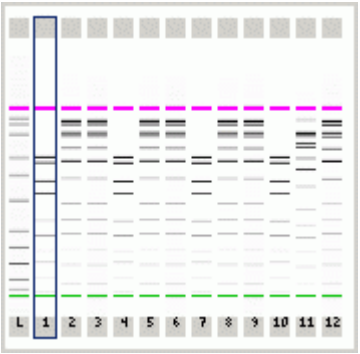
Quando vengono visualizzate la *Scheda Gel*, *Scheda Histogram (Single/Grid View) (Istogramma (Visualizzazione singola/a griglia))*, o *Scheda Dot-Plot (Single/Grid view) (Visualizzazione singola/a griglia)*, nel pannello inferiore è visibile l'icona di un chip. Questa icona del chip è più di una semplice immagine: il pozzetto attualmente selezionato è indicato da un piccolo cerchio bianco. Nell'esempio seguente viene mostrato un chip per DNA; altri tipi di analisi vengono visualizzate con un diverso colore e con un diverso tipo di chip.



Facendo clic sull'icona del chip aggiornerà la visualizzazione del gel, riflettendo la nuova scelta. Per un chip per l'analisi cellulare, questo si applica alle visualizzazioni di istogramma e dot-plot.

Piccola visualizzazione gel

Quando viene visualizzata la *Scheda Electropherogram (Single/Grid View) (Elettroferogramma (Visualizzazione singola/griglia))*, il pannello inferiore mostra una piccola visualizzazione del gel (tutti i pozzetti).



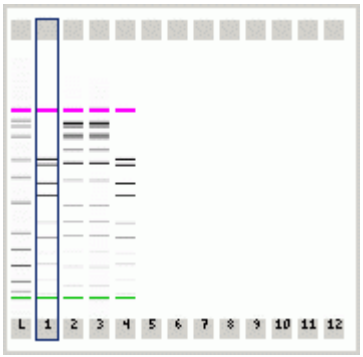
Una corsia della piccola immagine gel-simile è indicata da un rettangolo. Questa è la corsia selezionata, che corrisponde al pozzetto sul chip.

Facendo clic su una corsia diversa si provocherà la selezione di quella corsia ed il grafico dell'elettroferogramma sarà aggiornato per visualizzare ed evidenziare l'elettroferogramma associato.

Facendo clic su corsie differenti con il tasto CTRL premuto, si provoca la sovrapposizione degli elettroferogrammi della corsie selezionate. Le corsie sovrapposte sono indicate con una linea tratteggiata.

La piccola immagine gel-simile è sincronizzata con la *Scheda Electropherogram (Single/Grid View) (Elettroferogramma (Visualizzazione singola/griglia))*. Questo significa che se si selezionano o si sovrappongono i campioni utilizzando il *Menu Electropherogram (Elettroferogramma)*, per esempio, le corsie associate vengono indicate di conseguenza sulla piccola immagine gel-simile.

Quando ha inizio una nuova analisi del chip, la immagine gel-simile del gel è vuota e la prima corsia - il pozzetto dello standard - risulta selezionata. Dopo l'acquisizione dei dati, il rettangolo attorno alla corsia passerà da sinistra a destra evidenziando la corsia di cui si stanno acquisendo i dati in quel momento:



Comunque, se si seleziona una corsia/pozzetto che nella sequenza precede il pozzetto attuale, l'evidenziazione non cambierà di posizione quando viene analizzato un nuovo campione, ma rimarrà sulla corsia selezionata.

Cartelle

L'area di lavoro principale contiene diverse cartelle. Queste cartelle sono specifiche del contesto in cui si sta lavorando:

- Tabelle (Contesto Instrument (Strumento)), vedere la sezione "Tabelle (Contesto Instrument (Strumento))" a pagina 469)
- Cartelle (Contesto Data and Assays (Dati e analisi)), vedere la sezione "Cartelle (Contesto Data and Assays (Dati e analisi))" a pagina 486)
- Tabelle (Contesto Validation (Validazione)), vedere la sezione "Tabelle (Contesto Validation (Validazione))" a pagina 569)
- Tabelle (Contesto Comparison (Confronto)), vedere la sezione "Tabelle (Contesto Comparison (Confronto))" a pagina 575)

Tabelle (Contesto Instrument (Strumento))

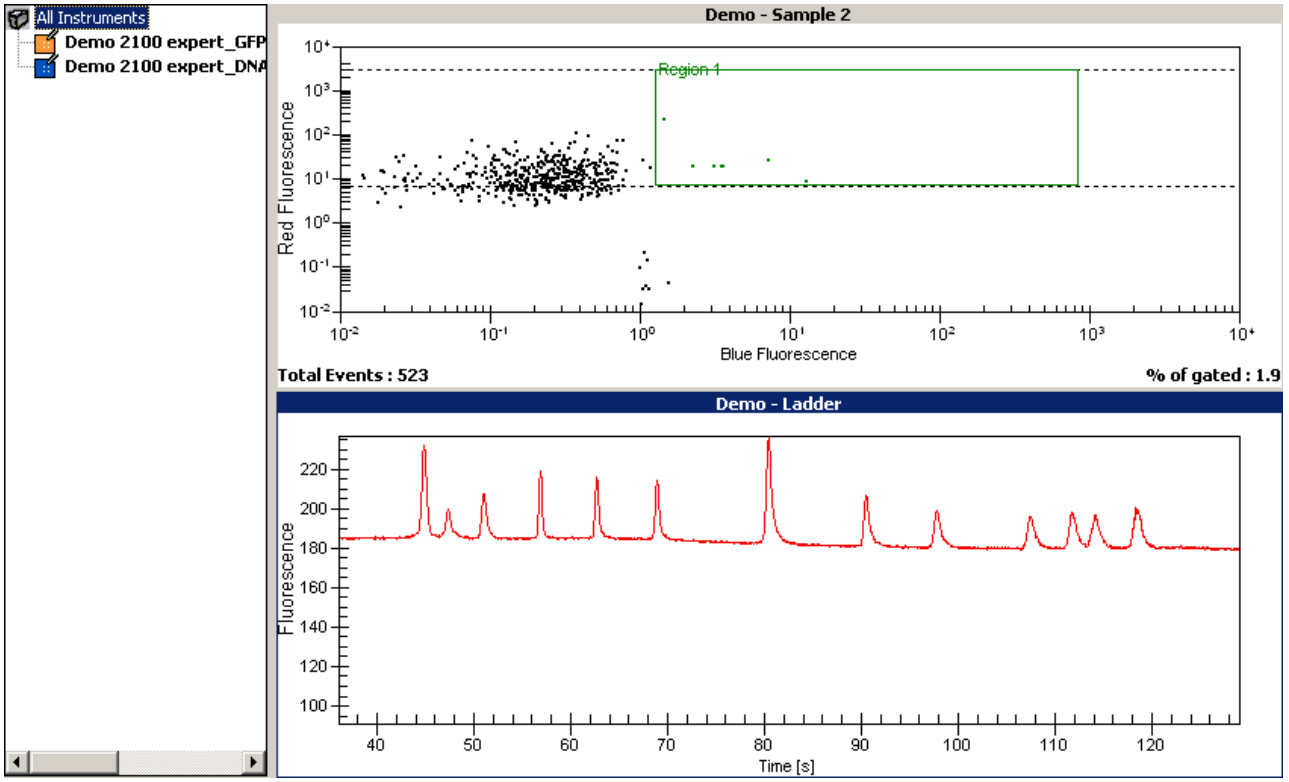
Nel contesto *Instrument* (Strumento), sono disponibili le seguenti cartelle:

- *Scheda Instrument (Strumento) (Visualizzazione a griglia)*
- *Scheda Instrument (Strumento) (Visualizzazione singola)*
- *Scheda Diagnostics (Diagnostica)*

Scheda Instrument (Strumento) (Visualizzazione a griglia)

Scopo

Mostra elettroferogrammi e/o dot-plot "in diretta", consentendo di vedere l'acquisizione dei dati da due bioanalizzatori in parallelo.



Elementi

Entrambi i pannelli sono etichettati con il nome dell'analisi ed il campione attualmente misurato.

Per una descrizione dettagliata degli elettroferogrammi e dot-plot "in diretta", vedere la sezione “Scheda Instrument (Strumento) (Visualizzazione singola)” a pagina 472.

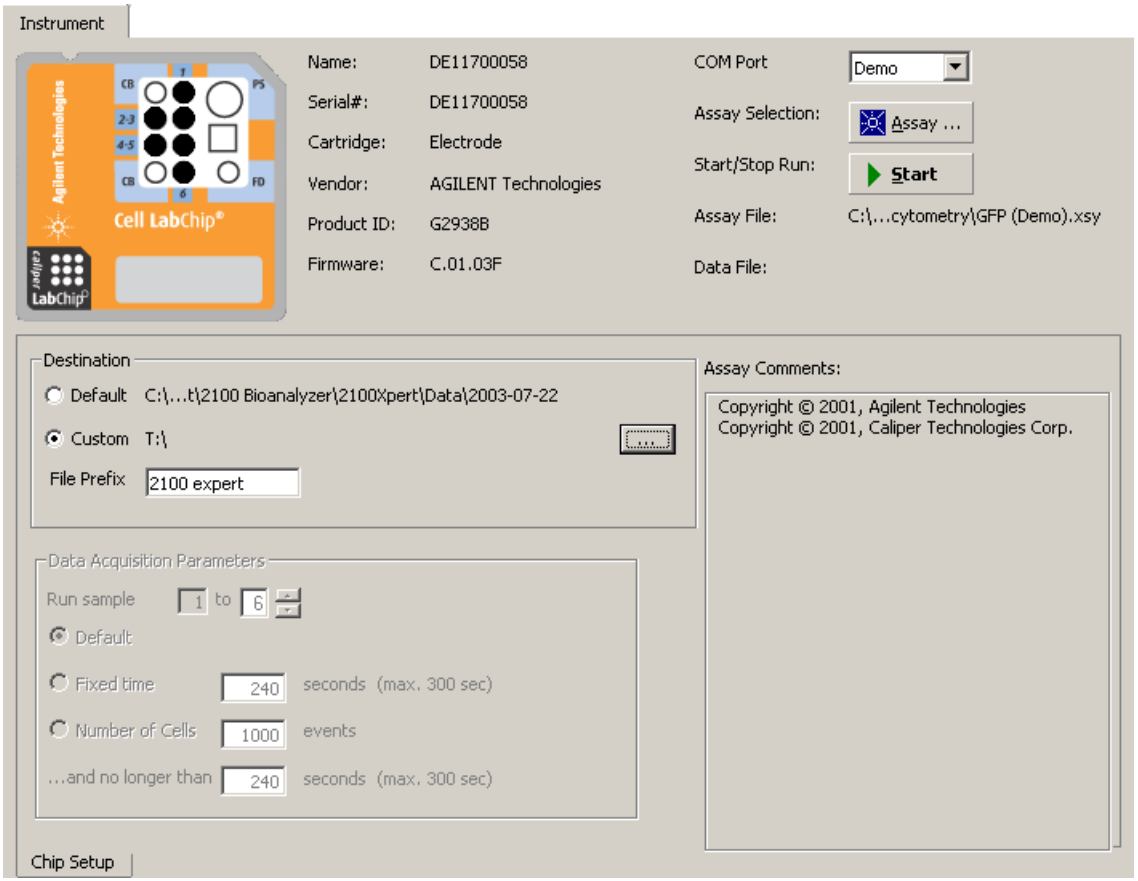
Azioni

- Utilizzare la barra degli strumenti (vedere la sezione “Menu Tile (Affianca)” a pagina 425) per modificare la visualizzazione.
- Fare clic e trascinare con il mouse per eseguire lo zoom dei grafici.
- Fare clic con il pulsante destro sui pannelli ed utilizzare il menu del contesto per ulteriori azioni (vedere la sezione “Scheda Instrument (Strumento) (Visualizzazione singola)” a pagina 472).
- Facendo doppio clic su uno dei pannelli si viene rinviati alla *Scheda Instrument (Strumento) (Visualizzazione singola)*.

Scheda Instrument (Strumento) (Visualizzazione singola)

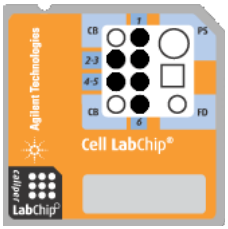
Scopo

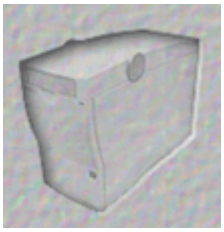
La scheda *Instrument* (Strumento) consente di configurare ed avviare l'analisi di un chip. Durante l'analisi del chip è possibile visualizzare i risultati delle misurazioni (dati grezzi).



Elementi

L'icona sul lato sinistro mostra lo stato attuale del bioanalizzatore Agilent 2100:

Icon	Significato
	È stata rilevata la presenza di un chip e lo strumento è pronto per l'analisi. L'icona del chip dipende dal tipo di analisi. L' icona del chip è più di una semplice immagine: prima che sia eseguita un'analisi, tutti i pozzetti del chip dell'icona sono neri; durante l'analisi, un piccolo cerchio lampeggiante indica il pozzetto analizzato in quel momento.
	Bioanalizzatore rilevato. Il coperchio è aperto.
	Bioanalizzatore rilevato. Il coperchio è chiuso, ma nessun chip è inserito.

Icon	Significato
	Indica che non è stato rilevato un bioanalizzatore. Controllare le impostazioni della *COM Port* (Porta COM), il cavo di connessione RS 232 e verificare che lo strumento sia acceso. Per informazioni più dettagliate vedere la *Guida all'installazione e all'uso sicuro del Bionalizzatore Agilent 2100*.

I seguenti dati sono ad uso informativo dell'utente:

Nome	Significato
Name (Nome)	Nome "personale" del bioanalizzatore.
Serial# (N° di serie)	Numero di serie del bioanalizzatore
Cartridge (Cartuccia)	Tipo di cartuccia, "Elettrodo" o "Pressione" (vedere la sezione "Come passare dall'analisi elettroforetica all'analisi citometrica a flusso e viceversa" a pagina 52).
Vendor (Produttore)	Produttore del bioanalizzatore.
Product ID (Codice prodotto)	Codice prodotto Agilent del bioanalizzatore.
Firmware File (File di firmware)	Numero della versione del firmware.

I seguenti controlli consentono di selezionare, avviare e controllare l'analisi di un chip.

Controllo	Significato
COM Port (Porta COM)	Consente di selezionare un bioanalizzatore specificando il numero della porta seriale a cui è connesso lo strumento. Per eseguire un'analisi dimostrativa senza utilizzare un bioanalizzatore, si può selezionare *Demo*.
Assay Selection (Selezione tipo ti analisi) 	Consente di selezionare un tipo di analisi per il chip. Sono disponibili solo i tipi di analisi adatti al chip inserito. Vedere anche la sezione "Menu Assays (Analisi)" a pagina 395.
Start/Stop Run (Avvia/Inter-rompi analisi)  	Avvia l'analisi del chip e scrive i risultati delle misurazioni nel *File di dati* specificato. Il pulsante *Start* (Avvia) è attivo solo se è connesso uno strumento, è stato rilevato un chip ed è stata selezionata un'analisi adatta. Quando si avvia l'analisi di un chip, la didascalia del pulsante diventa *Stop* (Interrompi) e consente di annullare l'analisi del chip.
Assay File (File di analisi)	File di analisi (.xsy), comprendenti il percorso selezionato per l'analisi del chip.
Data File (File di dati)	Nome del file di dati del chip (.xad) da generare. Facendo clic sul nome del file si viene portati al contesto *Data and Assay* (Dati ed analisi) dove è possibile visualizzare i risultati dell'analisi del chip.

Scheda secondaria Chip Setup (Impostazione del chip)

Sulla Scheda secondaria *Chip Setup* (Impostazione del chip), è possibile specificare una destinazione per il file di dati del chip ed effettuare impostazioni relative all'acquisizione dei dati.

Destinazione

Default (Predefinito)	Selezionare *Default* se si desidera salvare l'analisi del chip nella directory predefinita. La directory predefinita può essere definita nella finestra di dialogo *Options* (Opzioni). Vedere la sezione "Options – Data Files (Opzioni – File di dati)" a pagina 587.
Custom (Personalizzata)	Selezionare *Custom* (Personalizzata) se si desidera salvare l'analisi del chip in una posizione diversa. Facendo clic sul pulsante ... si apre una finestra di dialogo del sistema che consente di specificare una directory di propria scelta.
File Prefix (Prefisso del file)	Prefisso personalizzato dall'utente per il nome del file di dati del chip, che consente d'ignorare tutte le convenzioni di denominazione predefinite. Vedere la sezione "Options – Data Files (Opzioni – File di dati)" a pagina 587.

Parametri di acquisizione dei dati

Prima di avviare l'analisi del chip, è possibile modificare le impostazioni di acquisizione dei dati dell'analisi selezionata:

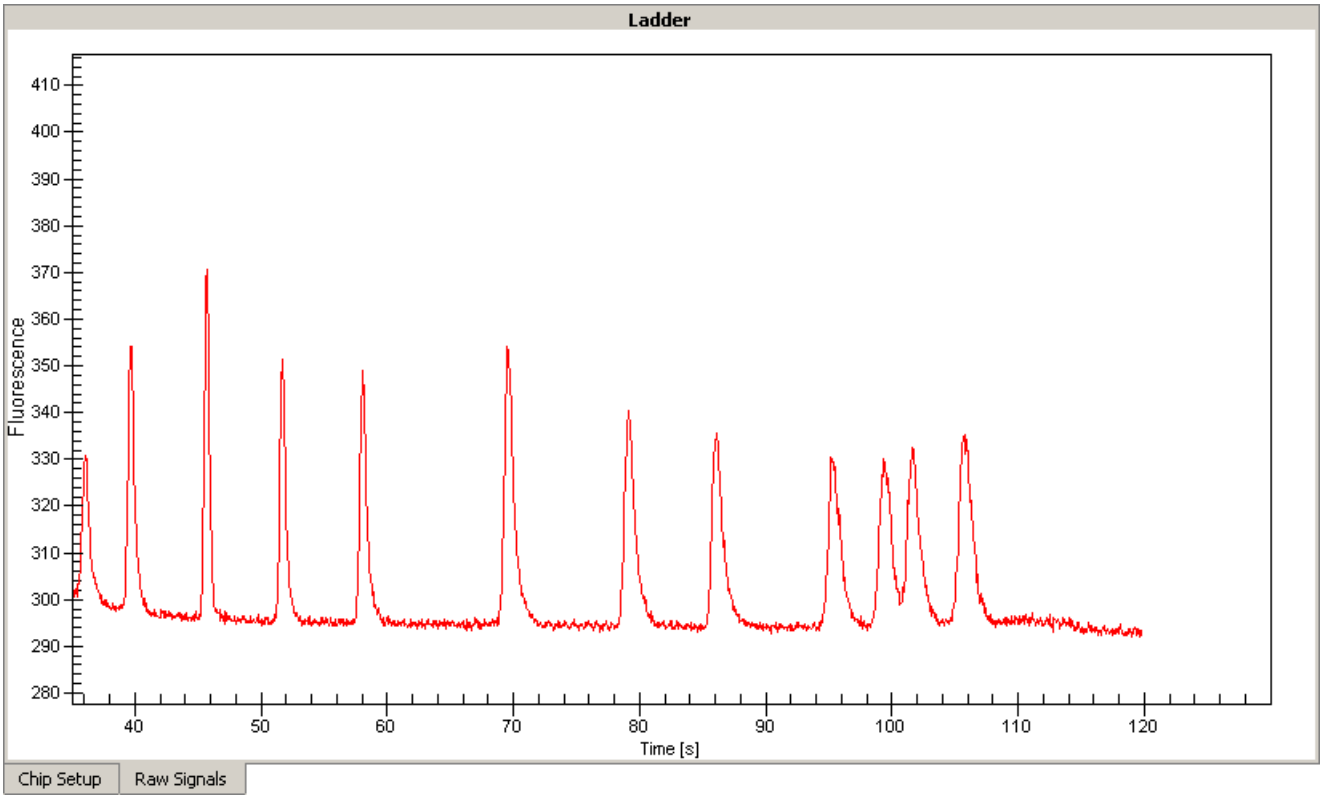
Run sample 1 to n (Analizza campioni da 1 a n)	Definisce l'intervallo di campioni da analizzare. Il range può essere impostato su 1...6 per le analisi citometriche e su 1...12 per le analisi elettroforetiche.

Per le analisi citometriche a flusso è possibile effettuare ulteriori impostazioni:

Default (Predefinito)	Abilitare questa opzione se si desidera utilizzare il tempo predefinito per l'analisi. Il tempo predefinito totale per tutti i campioni è 240 sec per campione.
Fixed time (Tempo fisso)	Abilitare questa opzione se si desidera misurare ogni campione entro un tempo definito. Inserire il tempo (in [sec]) che si desidera sia utilizzato per ogni campione. Il tempo di misurazione massimo per campione viene calcolato in base al numero di campioni selezionati.
Number of Cells (Numero di cellule)	Inserire il numero massimo di eventi (cellule) per campione da misurare.
... and no longer than (Non più a lungo di)	Inserire il tempo massimo di durata di un'analisi (indipendentemente dal raggiungimento del numero di eventi). Il tempo di misurazione massimo per campione viene calcolato in base al numero di campioni selezionati.

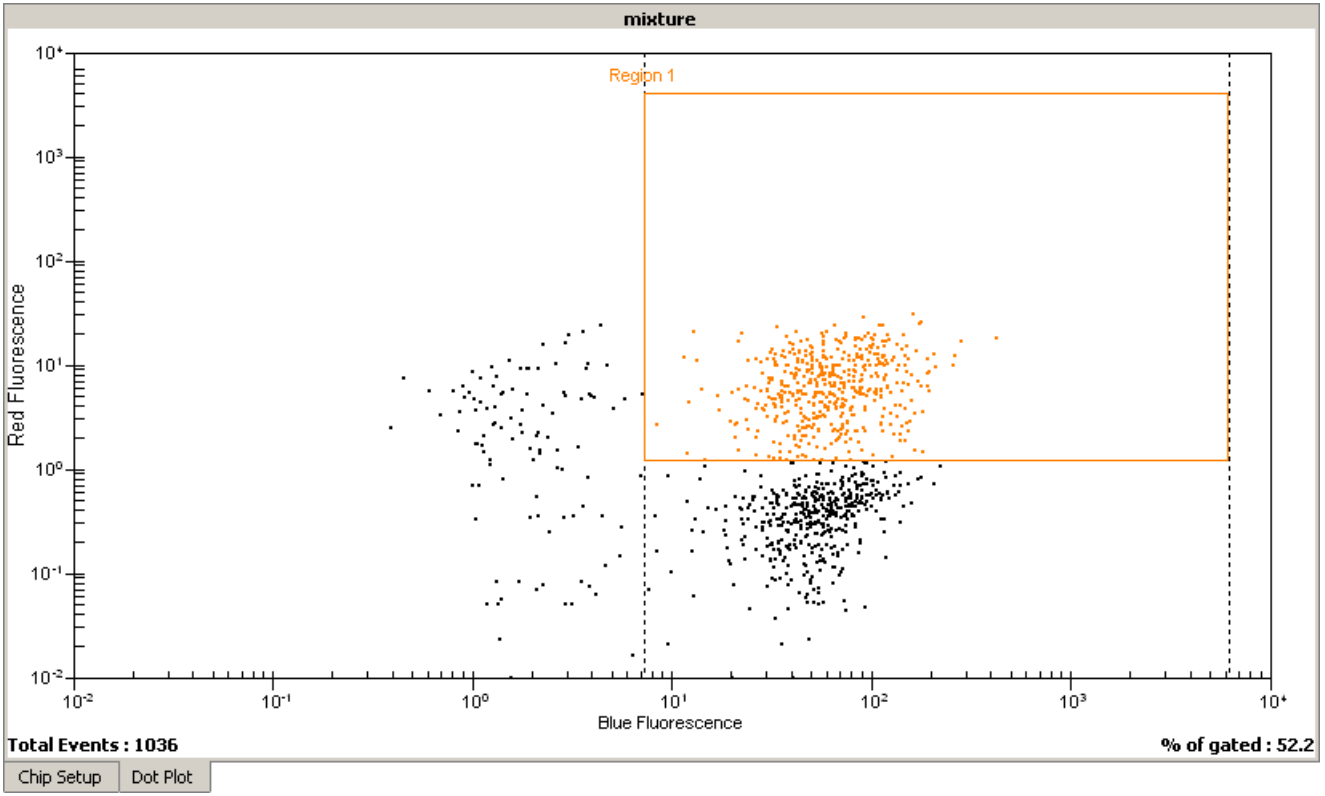
Scheda secondaria Raw Signals (Segnali grezzi)

Durante l'analisi *elettroforetica* di un chip, la scheda secondaria *Raw Signals* (Segnali grezzi) mostra un elettroferogramma del campione attualmente analizzato. Sopra il grafico viene visualizzato il nome del campione analizzato in quel momento. Il grafico è una rappresentazione "in diretta" del tempo di migrazione rispetto alle unità fluorescenti (per esempio, dati grezzi, comprendenti la fluorescenza di fondo).



Scheda secondaria Dot-Plot

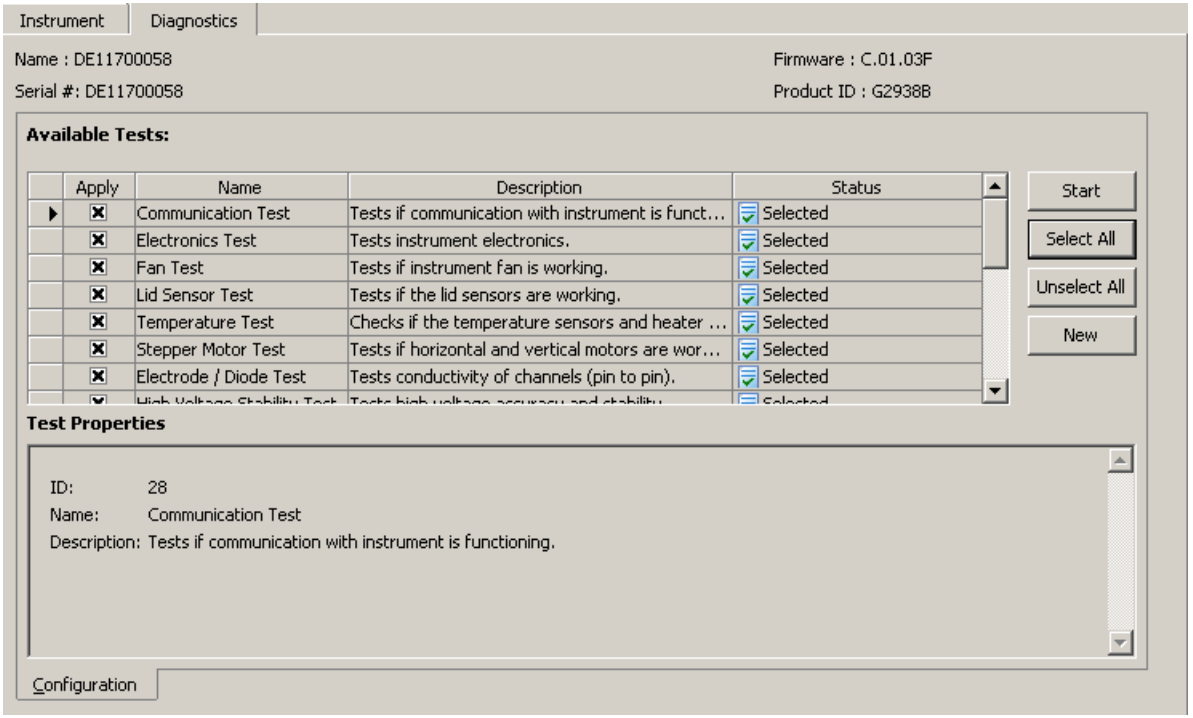
Durante l'analisi *citometrica a flusso* di un chip, la scheda secondaria *Dot Plot* mostra i singoli eventi (cellule) nel momento in cui vengono rivelate e visualizzate come punti. Nel sistema di coordinate, può essere letta l'intensità della fluorescenza rossa e blu di ogni evento. Il nome del campione attualmente misurato viene visualizzato nella parte alta del grafico, mentre il numero totale di eventi e la percentuale di eventi filtrati vengono riportati nella parte bassa del grafico.



Le aree (se definite) vengono visualizzate come rettangoli colorati.

Scheda Diagnostics (Diagnostica)

Sulla scheda *Diagnostics* (Diagnostica), è possibile selezionare ed avviare test diagnostici per l'hardware sul bioanalizzatore selezionato. I test controllano i componenti hardware e forniscono lo stato operativo attuale dello strumento.



Per eseguire con successo la serie completa di test diagnostici per l'hardware, occorre utilizzare chip nuovi o chip speciali forniti nel pacchetto per i chip test (vedere la sezione"Esecuzione della diagnostica dello strumento" a pagina 356).

Informazioni sullo strumento

Nella parte alta della scheda *Diagnostics* (Diagnostica) vengono riportate le seguenti informazioni sul bioanalizzatore analizzato:

Serial # (N° di serie)	Numero di serie del bioanalizzatore
Name (Nome)	Nome "personale" del bioanalizzatore.
Firmware	Numero della versione del firmware.
Product ID (Codice prodotto)	Codice prodotto Agilent del bioanalizzatore.

Test disponibili

Colonne

Apply (Applica)	Consente di selezionare il test da eseguire.
Name (Nome)	Nome del test diagnostico.
Descrizione	Breve descrizione dei test diagnostici.
Status (Stato)	Per ogni test viene mostrato lo stato corrente: • *Selected* (Selezionato) • *Executing* (In esecuzione) • *Execution pending* (In attesa di esecuzione) • *Executed, passed* (Eseguito, passato) • *Executed, failed* (Eseguito, fallito)

Electronics Test (Test dell'elettronica)	Verifica il funzionamento corretto di tutte le schede elettroniche del bioanalizzatore.
Lid Sensor Test (Test del sensore del coperchio)	Verifica il corretto funzionamento del sensore del coperchio, assicurando che il laser ed il LED siano spenti quando il coperchio è aperto.
Stepper Motor Test (Test del motore passo a passo)	Controlla che il motore a passo esegua il movimento corretto
Fan Test (Test ventola)	Controlla che la ventola ruoti alla velocità corretta.
Temperature Test (Test della temperatura)	Verifica che la velocità della rampa di salita della temperatura della piastra riscaldante sia entro le specifiche.

Current Leakage Test (Test della dispersione di corrente)	Misura la dispersione di corrente tra i piedini della cartuccia ad elettrodo. È richiesto il Chip test della dispersione di corrente. Per la corretta preparazione del Chip test della dispersione di corrente, fare riferimento alla nota tecnica inclusa nel pacchetto del Chip test.
Short Circuit Test (Test del corto circuito)	Controlla le dispersioni di corrente dello strumento utilizzando un chip vuoto. Nota: i limiti di questo test prevedono una temperatura ambiente di 25 °C ed una umidità relativa inferiore o pari al 60 %. Valori di temperature o umidità relativa più elevati possono portare a dispersione di corrente.
Optics Test (Test dell'ottica)	Verifica il corretto allineamento dell'ottica interna ed il funzionamento corretto del laser e del LED.
High Voltage Stability Test (Test di stabilità ad alto voltaggio)	Controlla l'accuratezza e la stabilità a voltaggio elevato di tutte le 16 alimentazioni ad alto voltaggio. È richiesto un chip inutilizzato (DNA, RNA, o proteine).
High Voltage Accuracy Test (Test di accuratezza ad alto voltaggio)	Verifica dei controlli dell'alto voltaggio
Test accuratezza alto voltaggio *sotto carico*	Controllo del diodo di riferimento del canale nella direzione di trasmissione.

Autofocus Test (Test di focalizzazione automatica)	Controlla la capacità di focalizzazione del sistema ottico. È richiesto il Chip test di focalizzazione automatica
Laser Stability Test (Test di stabilità del laser)	Misurazione della stabilità del segnale rosso del laser.
Electrode/Diode Test (Test dell'elettrodo/diodo)	Controlla il fotodiodo e le prestazioni corrente-verso-voltaggio del bioanalizzatore. È richiesto il Chip test dell'elettrodo/diodo.

Test della cartuccia a pressione

Pressure Offset Test Test di deviazione della pressione)	Il sistema per il vuoto della cartuccia a pressione è costituito da una pompa e dai tubi corrispondenti. Questo test calibra a zero i sensori della pressione.
Pressure Control Test (Test di controllo della pressione)	Verifica che il bioanalizzatore sia in grado di mantenere la pressione operativa di -140 mbar. Durante il test la pompa rimane attiva, mentre il sistema tenta di regolare la pressione a -140 mbar. È richiesto il Chip test di focalizzazione cellulare automatica.

System Leak Test (Test di tenuta del sistema)	Verifica che il bioanalizzatore sia in grado di mantenere il vuoto. Produce una pressione di -100 mbar e monitorizza i cambiamenti. È richiesto il Chip test di focalizzazione cellulare automatica.
Cell Autofocus Test (Test di focalizzazione cellulare automatica)	Controlla che il sistema ottico del bioanalizzatore sia calibrato correttamente. È richiesto il Chip test di focalizzazione cellulare automatica.

Pulsanti di comando

Start/Stop (Avvia/Interrompi)	Avvia il test selezionato. Durante l'esecuzione del test questo pulsante si trasforma in *Stop* (Interrompi) e consente di annullare l'analisi.
Select All (Seleziona tutti)	Seleziona tutti i test presenti nell'elenco.
Unselect All (Deseleziona tutti)	Deseleziona tutti i test.

Test Properties (Proprietà del test)

In questa area è possibile visualizzare dettagli (come nome, descrizione, limiti e requisiti) relativi al test attualmente evidenziato sull'elenco *Available Tests* (Test disponibili).

Cartelle (Contesto Data and Assays (Dati e analisi))

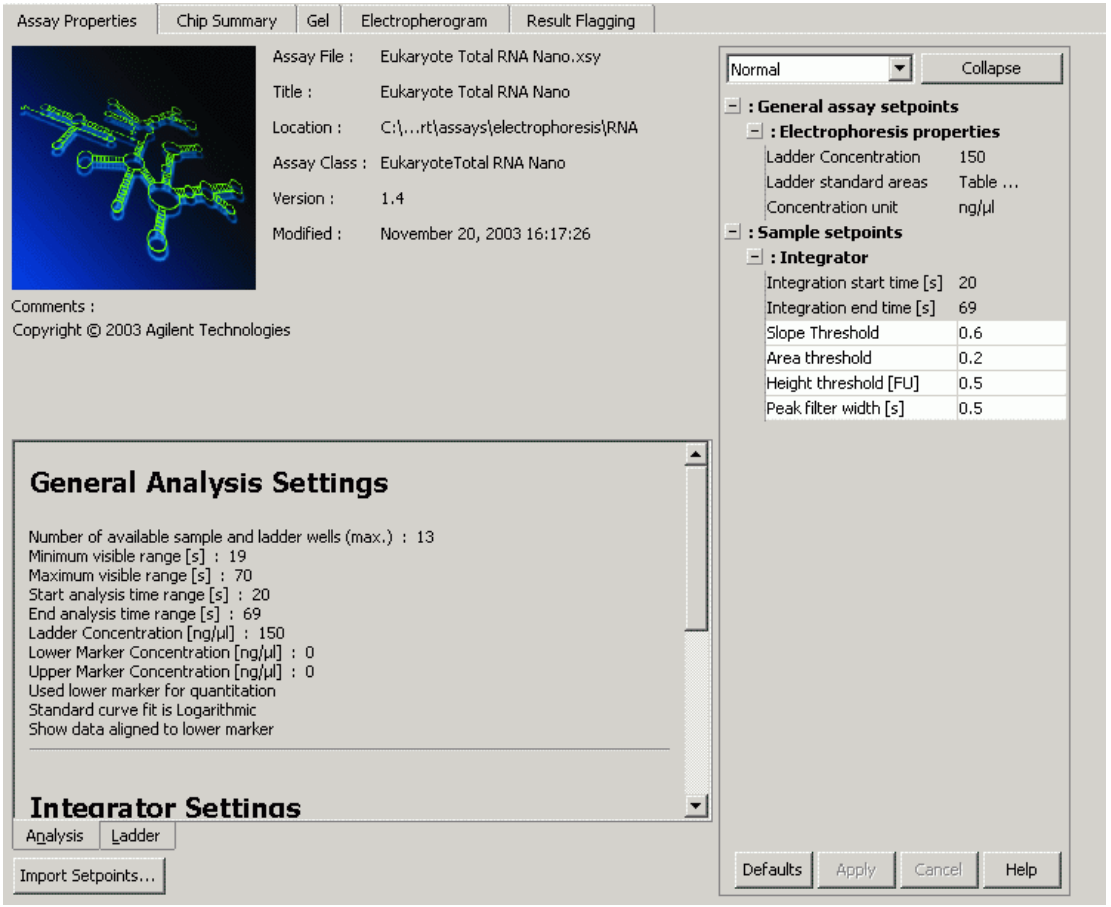
Nel contesto *Data and Assay* (Dati ed analisi), sono disponibili le seguenti cartelle:

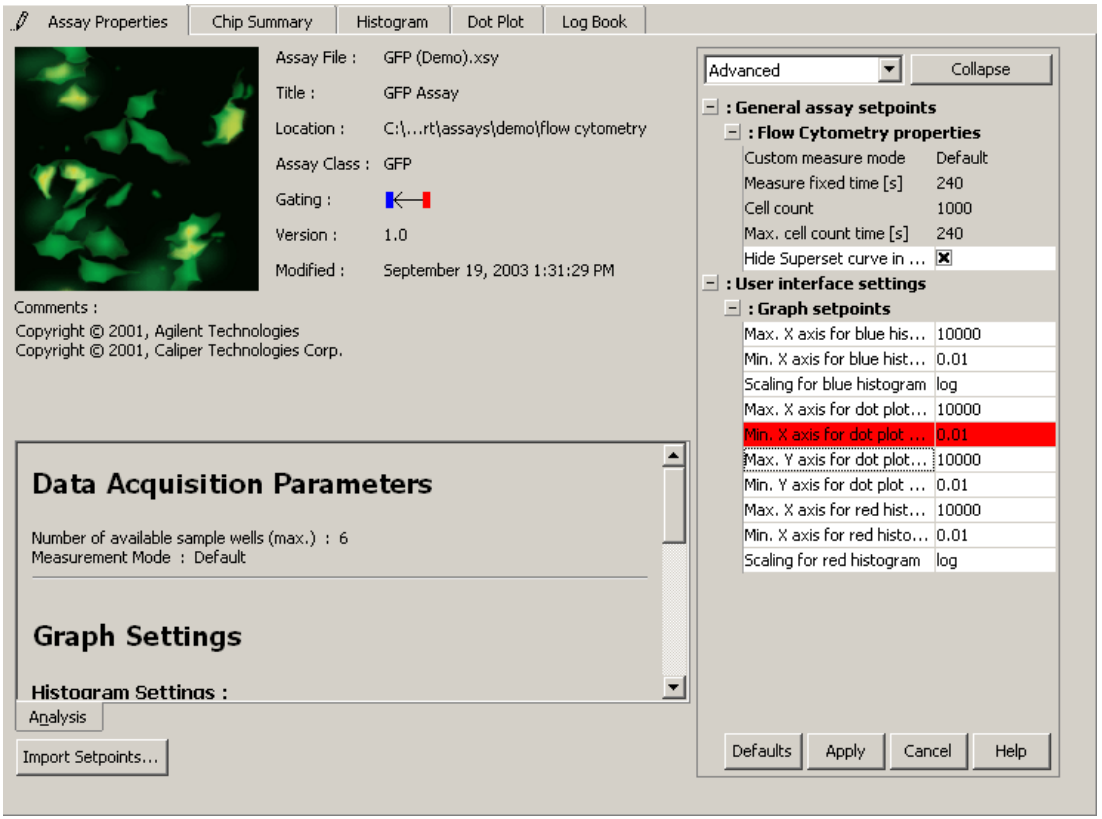
- La *Scheda Assay Properties (Proprietà d'analisi)* consente di visualizzare e modificare le proprietà del test attuale.
- La *Scheda Chip Summary (Riepilogo chip)* consente di modificare i dati del chip per l'analisi attuale.
- La *Scheda Gel* consente di valutare i risultati di analisi elettroforetiche utilizzando la visualizzazione del gel.
- La *Scheda Electropherogram (Single/Grid View) (Elettroferogramma (Visualizzazione singola/griglia))* consente di valutare i risultati di analisi elettroforetiche utilizzando gli elettroferogrammi.
- La *Scheda Histogram (Single/Grid View) (Istogramma (Visualizzazione singola/a griglia))* consente di valutare i risultati di analisi citometriche a flusso utilizzando gli istogrammi.
- La *Scheda Dot-Plot (Single/Grid view) (Visualizzazione singola/a griglia)* consente di valutare i risultati di analisi citometriche a flusso utilizzando i dot-plot.
- La *Scheda Result Flagging (Evidenziazione dei risultati)* consente di definire ed applicare le regole per l'assegnazione dei codici colore ai risultati delle analisi (solo analisi elettroforetiche).
- La *Scheda Log Book (Registro)* informa sugli eventi dell'analisi del chip e su eventi di tutto il sistema.

Scheda Assay Properties (Proprietà d'analisi)

Scopo

In questa scheda è possibile visualizzare e modificare i parametri (impostazioni) dell'analisi o del file di dati del chip attuali. È possibile anche importare marker e aree (solo analisi citometriche a flusso), e impostazioni di altri file d'analisi o di dati del chip (vedere la sezione “Importazione dei dati” a pagina 304).


Assay Properties
Chip Summary
Gel
Electropherogram
Result Flagging
Assay File : Eukaryote Total RNA Nano.xsy
Title : Eukaryote Total RNA Nano
Location : C:\...rt\assays\electrophoresis\RNA
Assay Class : EukaryoteTotal RNA Nano
Version : 1.4
Modified : November 20, 2003 16:17:26
Comments :
Copyright © 2003 Agilent Technologies
Normal
Collapse
: General assay setpoints
: Electrophoresis properties
Ladder Concentration 150
Ladder standard areas Table ...
Concentration unit ng/µl
: Sample setpoints
: Integrator
Integration start time [s] 20
Integration end time [s] 69
Slope Threshold 0.6
Area threshold 0.2
Height threshold [FU] 0.5
Peak filter width [s] 0.5
General Analysis Settings
Number of available sample and ladder wells (max.) : 13
Minimum visible range [s] : 19
Maximum visible range [s] : 70
Start analysis time range [s] : 20
End analysis time range [s] : 69
Ladder Concentration [ng/µl] : 150
Lower Marker Concentration [ng/µl] : 0
Upper Marker Concentration [ng/µl] : 0
Used lower marker for quantitation
Standard curve fit is Logarithmic
Show data aligned to lower marker
Integrator Settings
Analysis
Ladder
Import Setpoints...
Defaults
Apply
Cancel
Help


Assay Properties
Chip Summary
Histogram
Dot Plot
Log Book
Assay File : GFP (Demo).xsy
Title : GFP Assay
Location : C:\...rt\assays\demo\flow cytometry
Assay Class : GFP
Gating :
Version : 1.0
Modified : September 19, 2003 1:31:29 PM
Comments :
Copyright © 2001, Agilent Technologies
Copyright © 2001, Caliper Technologies Corp.
Data Acquisition Parameters
Number of available sample wells (max.) : 6
Measurement Mode : Default
Graph Settings
Histogram Settings :
Analysis
Import Setpoints...
Advanced
Collapse
: General assay setpoints
: Flow Cytometry properties
Custom measure mode Default
Measure fixed time [s] 240
Cell count 1000
Max. cell count time [s] 240
Hide Superset curve in ...
: User interface settings
: Graph setpoints
Max. X axis for blue his... 10000
Min. X axis for blue hist... 0.01
Scaling for blue histogram log
Max. X axis for dot plot... 10000
Min. X axis for dot plot ... 0.01
Max. Y axis for dot plot... 10000
Min. Y axis for dot plot ... 0.01
Max. X axis for red hist... 10000
Min. X axis for red histo... 0.01
Scaling for red histogram log
Defaults
Apply
Cancel
Help

Accesso

La scheda *Assay Properties* (Proprietà d'analisi) è sempre disponibile nel contesto *Data and Assay* (Dati e analisi).

Assay Icon (Icona dell'analisi)

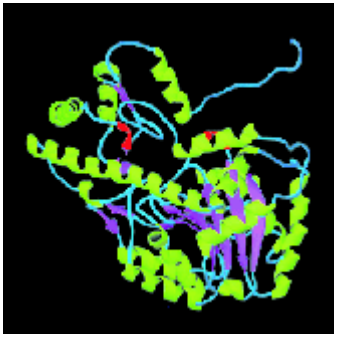
Questa icona visualizza il tipo di analisi.

Analisi elettroforetiche

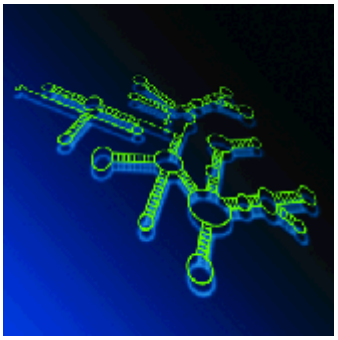
DNA



Protein (Proteina)

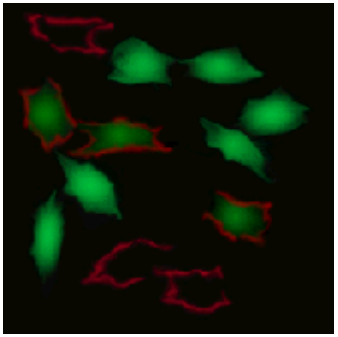


RNA

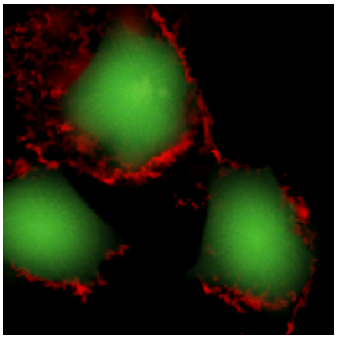


Analisi citometriche a flusso

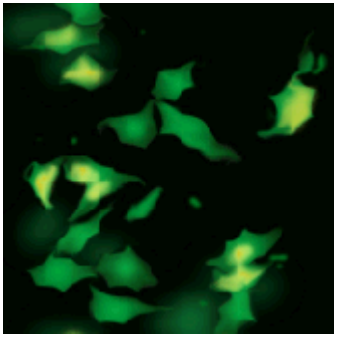
Apoptosi/
Da rosso a blu



Colorazione anticorpi/
Da blu a rosso



GFP
(Proteina verde fluorescente)



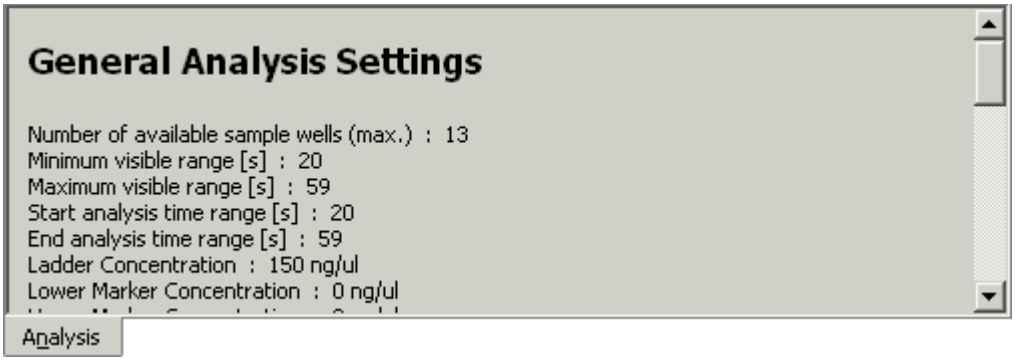
Generica/
Elementi attivi di controllo
Fattibilità di transfezione siRNA



File Name (Nome del file)	Nome del file di analisi (.xsy), su cui sono basati l'analisi attuale o il file di dati del chip; file .csy o .asy se la base è un file di analisi *Bio Sizing* o *Cell Fluorescence*.
Title (Titolo)	Nome dell'analisi base.
Location (Posizione)	Percorso per il file di analisi base.
Assay (Analisi)	Tipo di analisi (corrisponde all' *Assay Icon* (Icona dell'analisi).
Gating (solo analisi citometriche a flusso)	Direzione del filtro (vedere anche la sezione "Direzione del filtro" a pagina 272):  da blu a rosso, o  da rosso a blu.
Version (Versione)	Versione dell'analisi.
Modified (Modificato)	Data in cui è avvenuta l'ultima modifica dell'analisi o dei file di dati del chip.
Comments (Commenti)	Commenti come note di copyright, breve descrizione o riferimenti alle *Note applicative*.

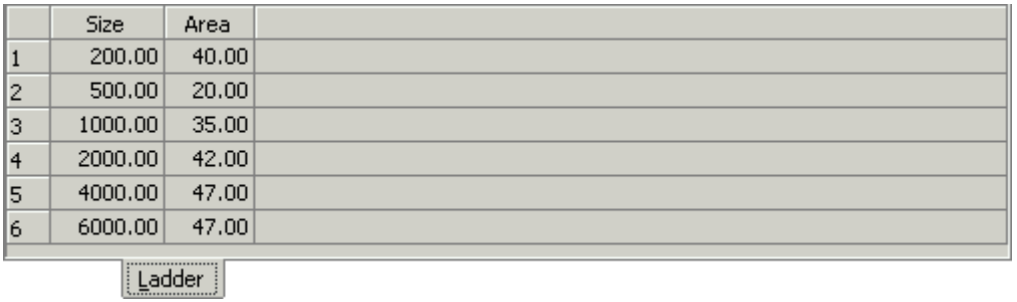
Scheda secondaria *Analysis* (Analisi)

Mostra una selezione di parametri d'analisi caratteristici.


General Analysis Settings
Number of available sample wells (max.) : 13
Minimum visible range [s] : 20
Maximum visible range [s] : 59
Start analysis time range [s] : 20
End analysis time range [s] : 59
Ladder Concentration : 150 ng/ul
Lower Marker Concentration : 0 ng/ul
Analysis

Scheda secondaria *Ladder* (Standard) (solo analisi elettroforetiche)

Scheda dei picchi dello standard, una riga per picco.



	Size	Area
1	200.00	40.00
2	500.00	20.00
3	1000.00	35.00
4	2000.00	42.00
5	4000.00	47.00
6	6000.00	47.00

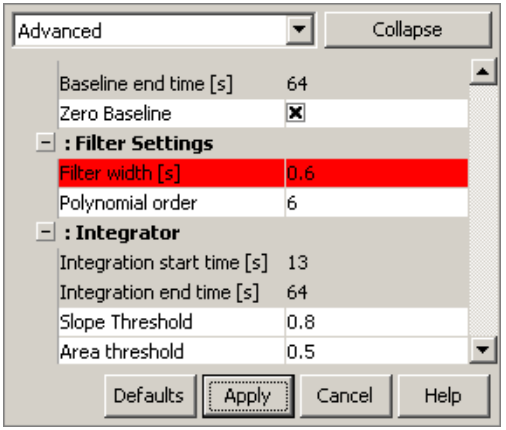
Ladder

Area (Area) = area sottesa dal picco
Size (Dimensione) = numero di coppie di basi (bp) per le analisi del DNA, numero di nucleotidi (nt) per le analisi dell'RNA o dimensione della proteina in kDA per le analisi delle proteine

Import Setpoints... (Importa impostazioni)	Apre una finestra di dialogo che consente d'importare le impostazioni di analisi dei dati da un file di analisi (.xsy) o da un file di dati del chip (.xad). Per i file di citometria a flusso, vengono importati anche i marker e le aree.
Import Markers and Regions... (Importa marker e aree) (solo per analisi citometriche a flusso)	Apre una finestra di dialogo che consente di importare marker e aree da un file d'analisi (.xsy) o da un file di dati del chip (.xad). Importando marker e aree - le analisi specifiche vengono convertite in analisi generiche.

Setpoint Explorer (Navigatore delle impostazioni)

Consente di modificare i parametri di analisi (impostazioni dei dati di analisi) *globalmente*, cioè per tutti i campioni. Fare clic sui nodi + per espandere e sui nodi - per chiudere i rami. Le impostazioni modificabili sono quelle in bianco. Per modificare un'impostazione, fare doppio clic sul valore, inserire il nuovo valore e premere invio. I valori modificati appaiono in rosso (fino a che vengono applicati):



Normal/Advanced (Normale/Avanzata): passa dalla modalità Normale alla modalità Avanzata e viceversa.

Expand/Collapse (Ingrandisci/Riduci): ingrandisce/riduce *tutti* i nodi.

Defaults (Predefiniti): azzera tutti i valori delle impostazioni ai valori predefiniti dell'analisi.

Apply (Applica): applica le modifiche. È necessario salvare i file di analisi/file di dati del chip per rendere permanenti le nuove impostazioni.

Cancel (Annulla): annulla tutte le modifiche, a meno che non siano già state applicate.

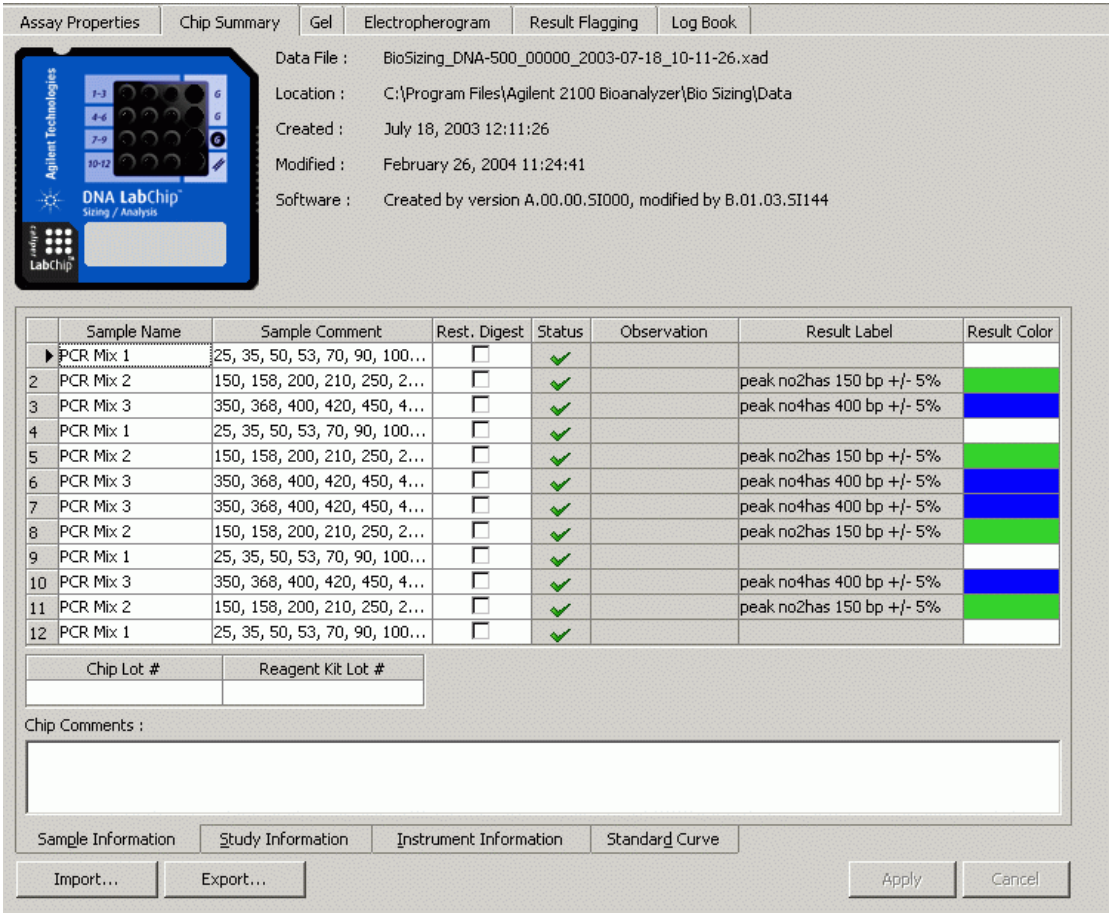
SUGGERIMENTO

Quando si applicano impostazioni modificate dell'analisi dei dati, il software ricalcola immediatamente (per predefinizione) i dati grezzi, operazione che richiederà un po' di tempo. Fare clic su  sulla barra degli strumenti o selezionare *Don't Analyze* (Non analizzare) sul menu *Menu Gel* o *Menu Electropherogram (Elettroferogramma)* per interrompere momentaneamente l'analisi automatica dei dati mentre si modificano le impostazioni.

Scheda Chip Summary (Riepilogo chip)

Scopo

La scheda *Chip Summary* (Riassunto chip) riporta informazioni sul file di analisi o sul file di dati del chip e consente d'inserire commenti relativi a chip, campione e studio.


Assay Properties
Chip Summary
Gel
Electropherogram
Result Flagging
Log Book
Agilent Technologies
DNA LabChip
Sizing / Analysis
Data File : BioSizing_DNA-500_00000_2003-07-18_10-11-26.xad
Location : C:\Program Files\Agilent 2100 Bioanalyzer\Bio Sizing\Data
Created : July 18, 2003 12:11:26
Modified : February 26, 2004 11:24:41
Software : Created by version A.00.00.SI000, modified by B.01.03.SI144
Sample Name | Sample Comment | Rest. Digest | Status | Observation | Result Label | Result Color
1 PCR Mix 1 25, 35, 50, 53, 70, 90, 100...
2 PCR Mix 2 150, 158, 200, 210, 250, 2... peak no2has 150 bp +/- 5%
3 PCR Mix 3 350, 368, 400, 420, 450, 4... peak no4has 400 bp +/- 5%
4 PCR Mix 1 25, 35, 50, 53, 70, 90, 100...
5 PCR Mix 2 150, 158, 200, 210, 250, 2... peak no2has 150 bp +/- 5%
6 PCR Mix 3 350, 368, 400, 420, 450, 4... peak no4has 400 bp +/- 5%
7 PCR Mix 3 350, 368, 400, 420, 450, 4... peak no4has 400 bp +/- 5%
8 PCR Mix 2 150, 158, 200, 210, 250, 2... peak no2has 150 bp +/- 5%
9 PCR Mix 1 25, 35, 50, 53, 70, 90, 100...
10 PCR Mix 3 350, 368, 400, 420, 450, 4... peak no4has 400 bp +/- 5%
11 PCR Mix 2 150, 158, 200, 210, 250, 2... peak no2has 150 bp +/- 5%
12 PCR Mix 1 25, 35, 50, 53, 70, 90, 100...
Chip Lot #
Reagent Kit Lot #
Chip Comments :
Sample Information
Study Information
Instrument Information
Standard Curve
Import...
Export...
Apply
Cancel

Accesso

La scheda *Chip Summary* (Riassunto del chip) è sempre disponibile nel contesto *Data and Assay* (Dati e analisi).

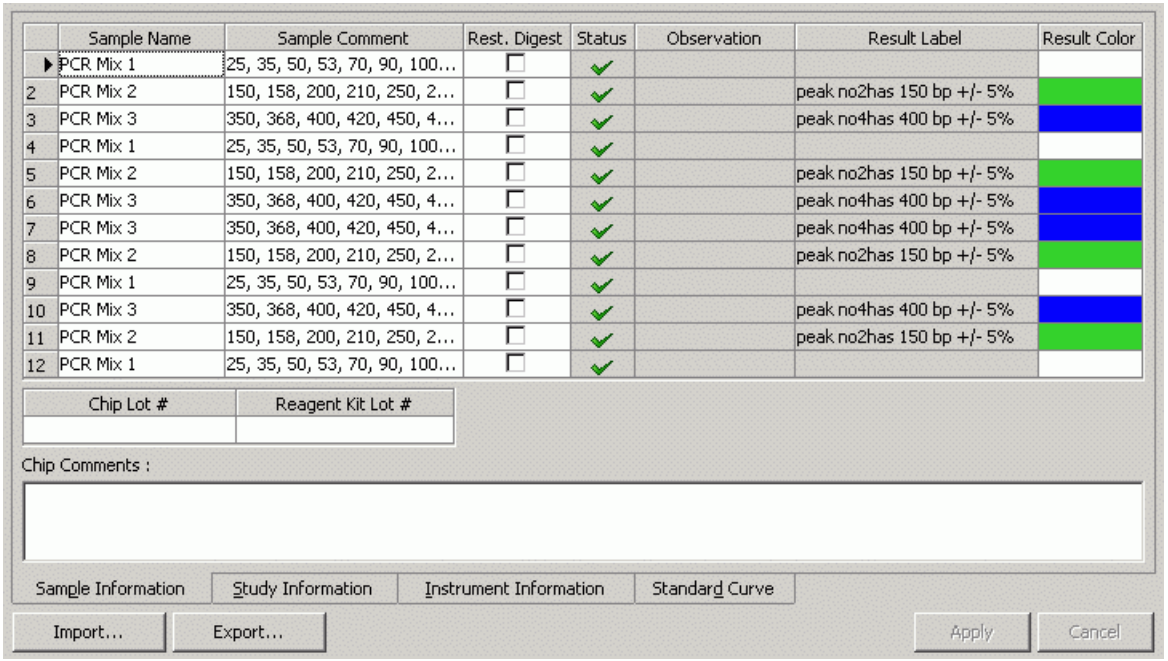
Elementi

Chip icon (Icona del chip)	L'icona del chip indica il tipo di analisi: DNA, RNA, o Proteina.
File Name (Nome del file)	Nome del file di dati del chip (.xad).
Location (Posizione)	Directory in cui è memorizzato il file di dati del chip.
Created (Creato)	Data di creazione del file di dati del chip (data di misurazione).
Modified (Modificato)	Data di ultima modifica del file di dati del chip.
Software	2100 expert versioni utilizzate per creare e modificare il file di dati del chip.
Import... (Importa)	Apre la finestra di dialogo *Import Sample Information* (Importa informazioni del campione) che consente d'importare nomi e commenti dei campioni da file .txt o .csv.
Export... (Esporta)	Apre la finestra di dialogo *Export Sample Information* (Esporta informazioni del campione) che consente di scrivere nomi e commenti dei campioni in file .txt o .csv.
Apply (Applica)	Applica (ma non salva) le modifiche.
Cancel (Annulla)	Annulla tutte le modifiche eccetto quelle già applicate.

NOTA

Se si tenta di uscire dalla scheda *Chip Summary* (Riassunto del chip) dopo aver fatto le modifiche, ma senza aver fatto clic su *Apply* (Applica), viene visualizzato un messaggio che chiede di accettare le modifiche. Se non si accetta, le modifiche vengono rifiutate.

Sample Information (Informazioni del campione) (analisi elettroforetiche)

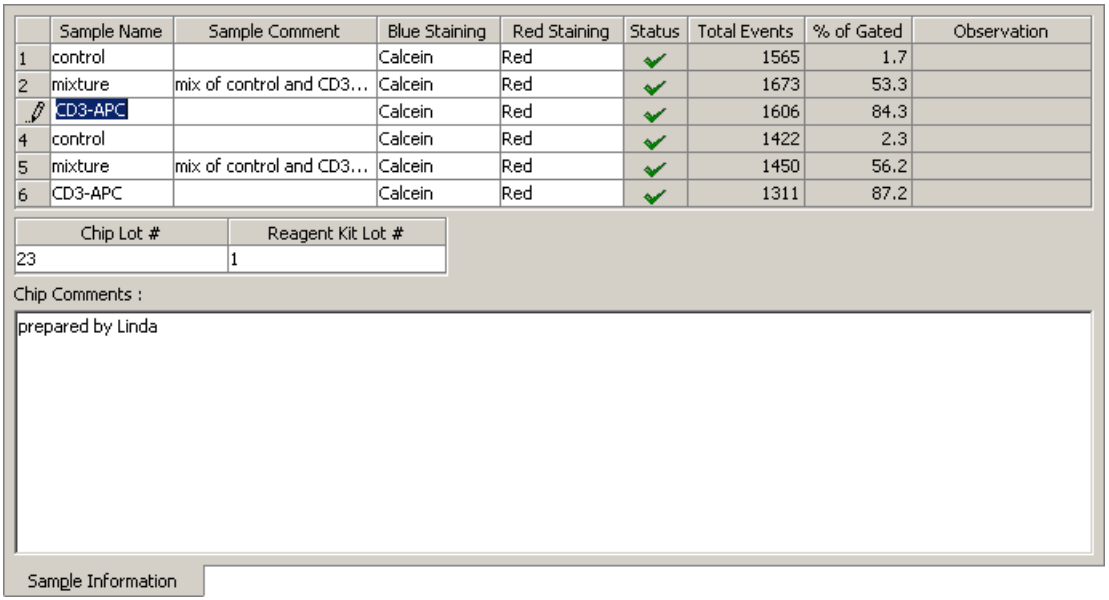

Sample Name
Sample Comment
Rest. Digest
Status
Observation
Result Label
Result Color
1 PCR Mix 1 25, 35, 50, 53, 70, 90, 100...
2 PCR Mix 2 150, 158, 200, 210, 250, 2... peak no2has 150 bp +/- 5%
3 PCR Mix 3 350, 368, 400, 420, 450, 4... peak no4has 400 bp +/- 5%
4 PCR Mix 1 25, 35, 50, 53, 70, 90, 100...
5 PCR Mix 2 150, 158, 200, 210, 250, 2... peak no2has 150 bp +/- 5%
6 PCR Mix 3 350, 368, 400, 420, 450, 4... peak no4has 400 bp +/- 5%
7 PCR Mix 3 350, 368, 400, 420, 450, 4... peak no4has 400 bp +/- 5%
8 PCR Mix 2 150, 158, 200, 210, 250, 2... peak no2has 150 bp +/- 5%
9 PCR Mix 1 25, 35, 50, 53, 70, 90, 100...
10 PCR Mix 3 350, 368, 400, 420, 450, 4... peak no4has 400 bp +/- 5%
11 PCR Mix 2 150, 158, 200, 210, 250, 2... peak no2has 150 bp +/- 5%
12 PCR Mix 1 25, 35, 50, 53, 70, 90, 100...
Chip Lot #
Reagent Kit Lot #
Chip Comments :
Sample Information
Study Information
Instrument Information
Standard Curve
Import...
Export...
Apply
Cancel

La tabella del campione comprende:

Sample Name *(Nome del campione)*	Consente di inserire dei nomi facili da ricordare per i campioni. Cambia i nomi predefiniti dei campioni in nomi di propria scelta. Evidenziare semplicemente il nome esistente (per esempio, "Campione 1") e digitare un nuovo nome.
Sample Comment *(Commento del campione)*	Consente d'inserire un commento per ogni campione. *Sample Name* ed ogni *Sample Comment* associato appariranno sulla stampa.
Rest. Digest (Restrizione enzimatica) (soloDNA)	Indicando che un campione è una *restrizione enzimatica* consente 2100 expert di notare le possibili comigrazioni dei picchi. Dato che si assume che le molarità di tutti i frammenti siano le stesse, qualsiasi picco o cluster con molarità significativamente superiore al resto viene evidenziato come somma potenziale di picchi comigranti, consentendo di esaminarli più dettagliatamente. Vedere anche la sezione "Analisi dei dati: DNA" a pagina 105.
Use For Calibration *(Utilizza per calibrazione)* *(solo Proteina)* *Conc. [µg/ml]* (solo Proteina)	Per campioni di proteine, è possibile abilitare *Use For Calibration* per ogni pozzetto ed inserire la *concentrazione* della proteina standard. Questo consente di generare una curva di calibrazione che può essere utilizzata per la quantificazione assoluta di questa proteina all'interno di campioni differenti sullo stesso chip. Vedere anche la sezione "Analisi dei dati: Protein (Proteina)" a pagina 129.

Status (Stato)	Un segno di spunta verde indica che l'analisi del campione è avvenuta con successo. Una croce bianca su fondo rosso indica un'analisi incompleta.
Observation (Osservazione)	Osservazione effettuata da 2100 expert durante la misurazione.
Result Label (Etichetta risultato)	Se sono state definite etichette di evidenziazione dei risultati (vedere la sezione "Result Flagging (Evidenziazione dei risultati)" a pagina 179), il testo dell'etichetta viene visualizzato in questa colonna.
Result Flagging (Evidenziazione dei risultati)	Se sono state definite delle regole di evidenziazione dei risultati (vedere la sezione "Result Flagging (Evidenziazione dei risultati)" a pagina 179), viene visualizzata una barra il cui colore è determinato dalla prima regola di evidenziazione che risulta soddisfatta dal campione.
Chip Lot # (N° lotto del chip)	Numero di lotto del chip.
Reagent Kit Lot # (N° lotto del kit reagenti)	Numero di lotto del kit di reagenti.
Chip Comments (Commenti sul chip)	Consente di inserire note per documentare il chip e/o l'analisi del chip. Queste note saranno stampate anche sul report.

Scheda secondaria *Sample Information* (Imformazioni sul campione) (analisi citometriche a flusso)



	Sample Name	Sample Comment	Blue Staining	Red Staining	Status	Total Events	% of Gated	Observation
1	control		Calcein	Red	✓	1565	1.7	
2	mixture	mix of control and CD3...	Calcein	Red	✓	1673	53.3	
	CD3-APC		Calcein	Red	✓	1606	84.3	
4	control		Calcein	Red	✓	1422	2.3	
5	mixture	mix of control and CD3...	Calcein	Red	✓	1450	56.2	
6	CD3-APC		Calcein	Red	✓	1311	87.2	

Chip Lot #	Reagent Kit Lot #
23	1

Chip Comments :

prepared by Linda

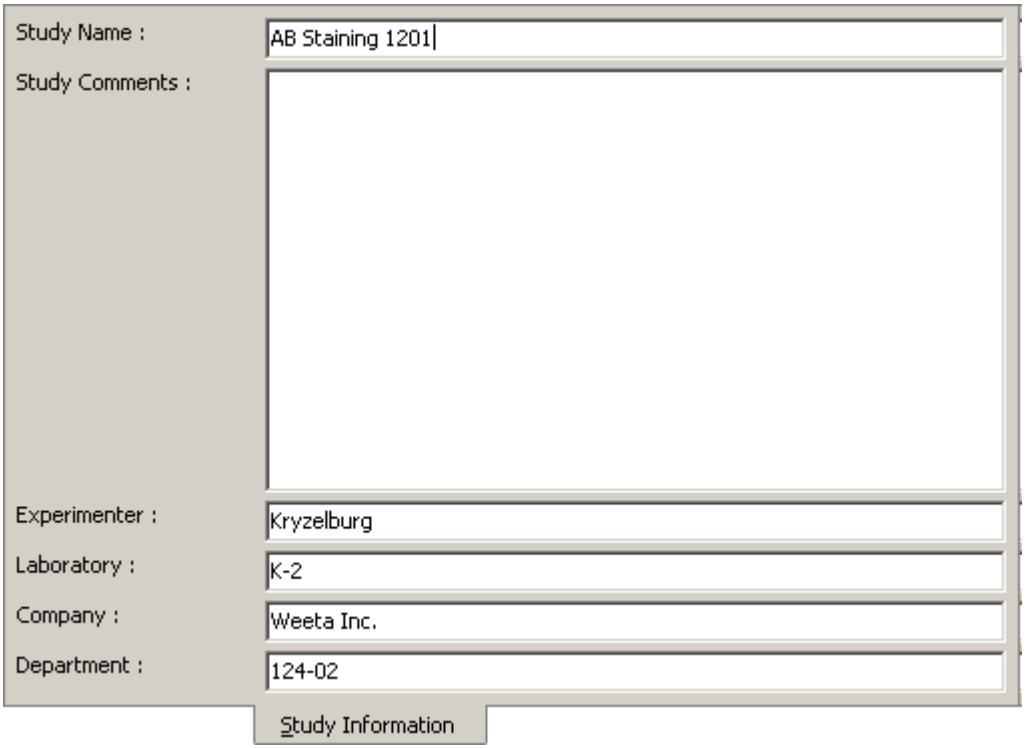
Sample Information

La tabella del campione mostra i risultati principali dell'analisi e consente di inserire i nomi ed i commenti relativi al campione.

Sample Name (Nome del campione)	Consente di inserire dei nomi facili da ricordare per i campioni.
Sample Comment (Commento del campione)	Consente d'inserire un commento per il campione.
Blue Staining (Colorazione blu)	Consente di inserire il nome del colorante che viene utilizzato per la colorazione fluorescente blu.

Red Staining (Colorazione rossa)	Consente di inserire il nome del colorante che viene utilizzato per la colorazione fluorescente rossa.
Status (Stato)	Un segno di spunta verde indica che l'analisi del campione è avvenuta con successo. Una croce rossa indica un'analisi incompleta o abortita. Nessun simbolo sta ad indicare che l'analisi del campione non è avvenuta.
Total Events (Eventi totali)	Mostra il numero di eventi rilevati per il campione.
% of Gated (% di filtrati)	Mostra il sottoinsieme di cellule determinato dal filtro (in percentuale).
Observation (Osservazione)	Osservazione effettuata da 2100 expert durante la misurazione.
Chip Lot # (N° lotto del chip)	Numero di lotto del chip
Reagent Kit Lot # (N° lotto del kit reagenti)	Numero di lotto del kit di reagenti
Chip Comments (Commenti sul chip)	Consente di inserire un testo per documentare l'analisi del chip.

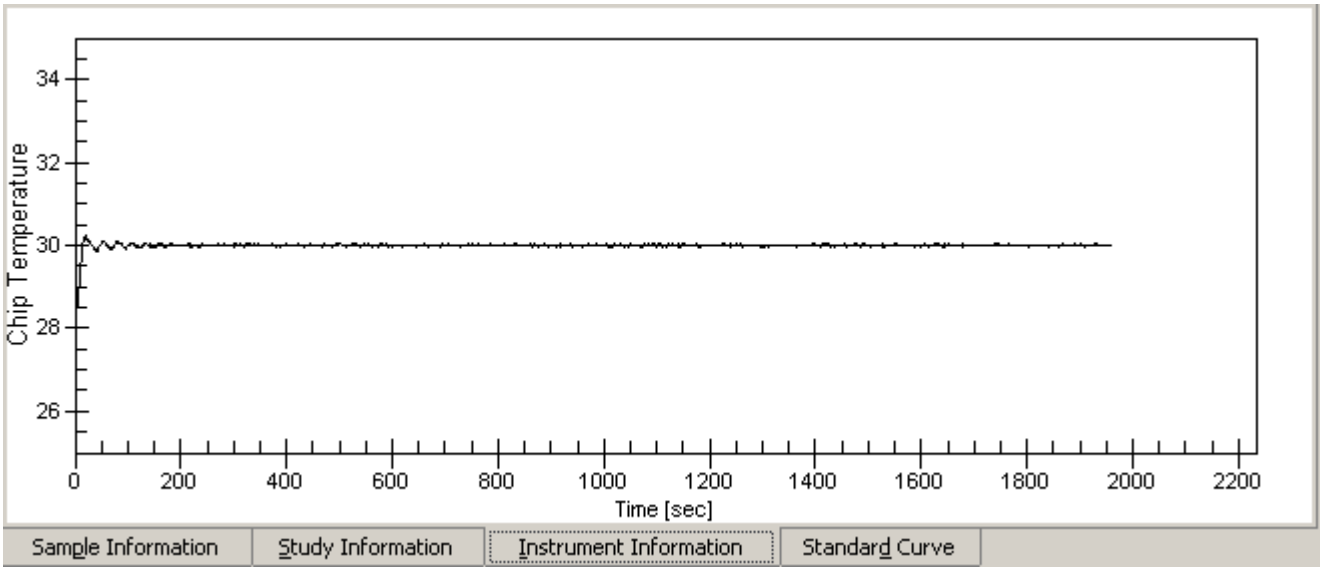
Scheda secondaria *Study Information* (Informazioni sullo studio)



Per identificare facilmente l'analisi, è possibile aggiungere informazioni relative allo studio (*Study Name* (Nome studio) e *Study Comments* (Commenti studio), lo *Experimenter* (Sperimentatore), il *Laboratory* (Laboratorio), la *Company* (Azienda) ed il *Department* (Reparto)).

Queste possono essere utilizzate per scambiare dati con altri reparti o aziende.

Scheda secondaria *Instrument Information* (Informazioni sullo strumento)

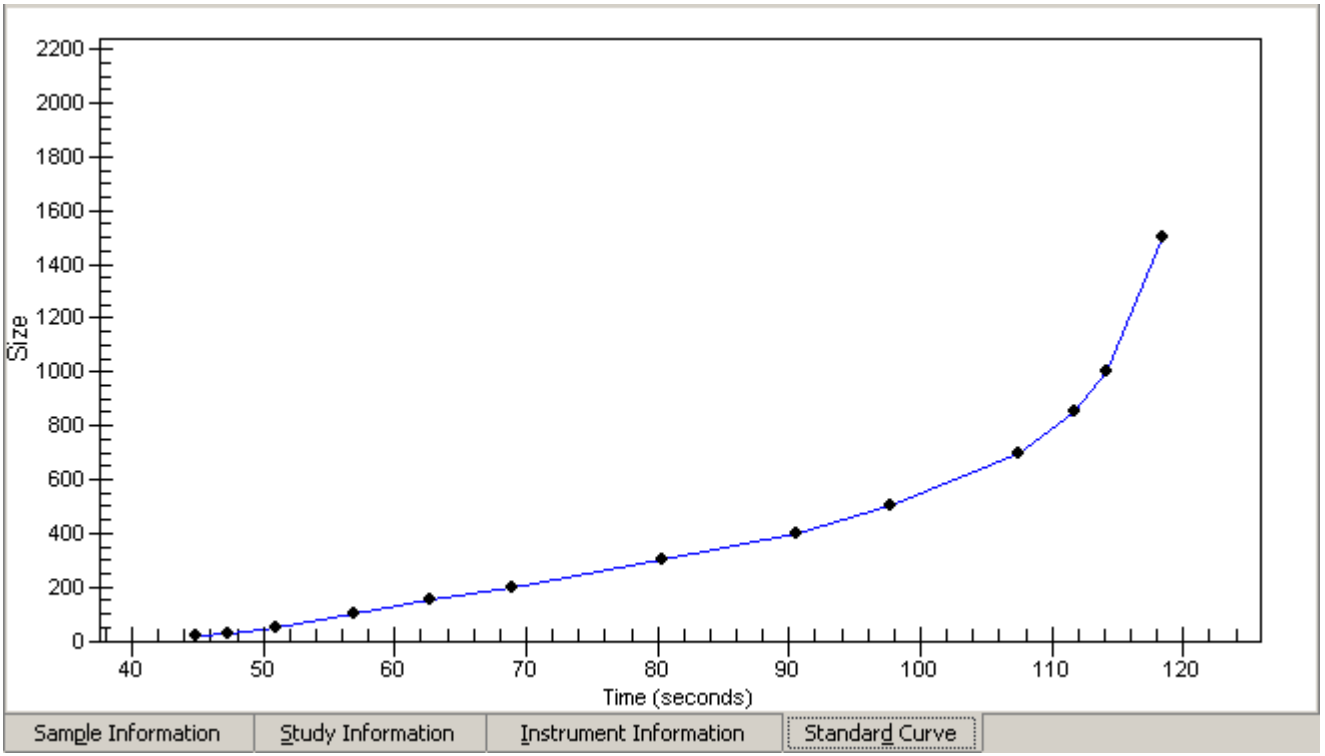


Questa scheda visualizza la temperatura della piastra base del chip, registrata durante l'analisi del chip. Il tempo di acquisizione viene visualizzato in relazione alla temperatura.

NOTA

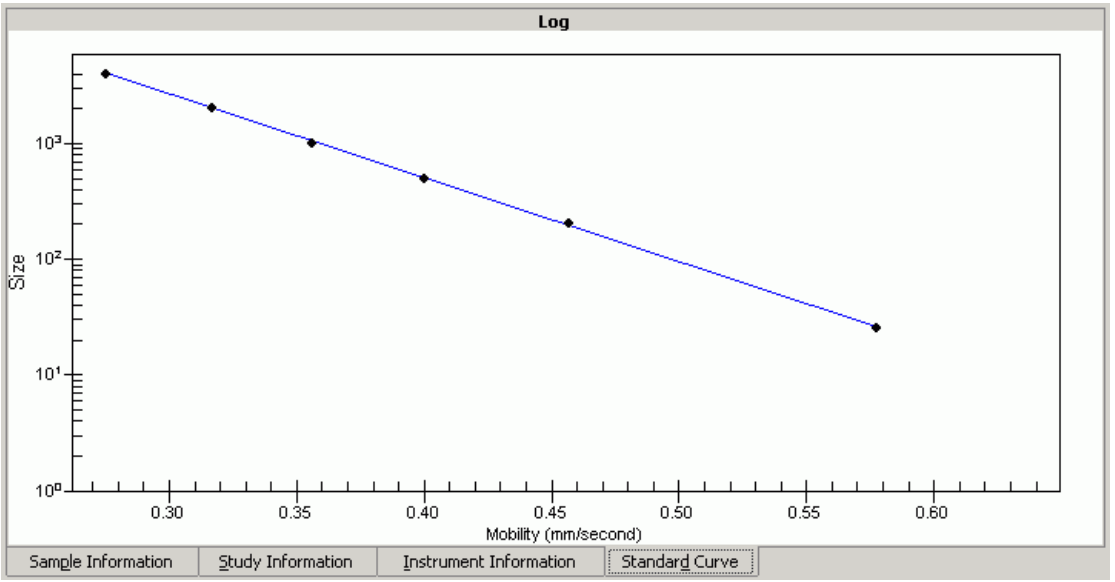
La normale temperatura del chip deve essere 25°C per la citometria a flusso 30°C per le analisi elettroforetiche. Differenze significative possono influenzare negativamente i risultati dell'analisi.

Scheda secondaria *Standard Curve* (Curva standard) (solo analisi DNA/Proteina)



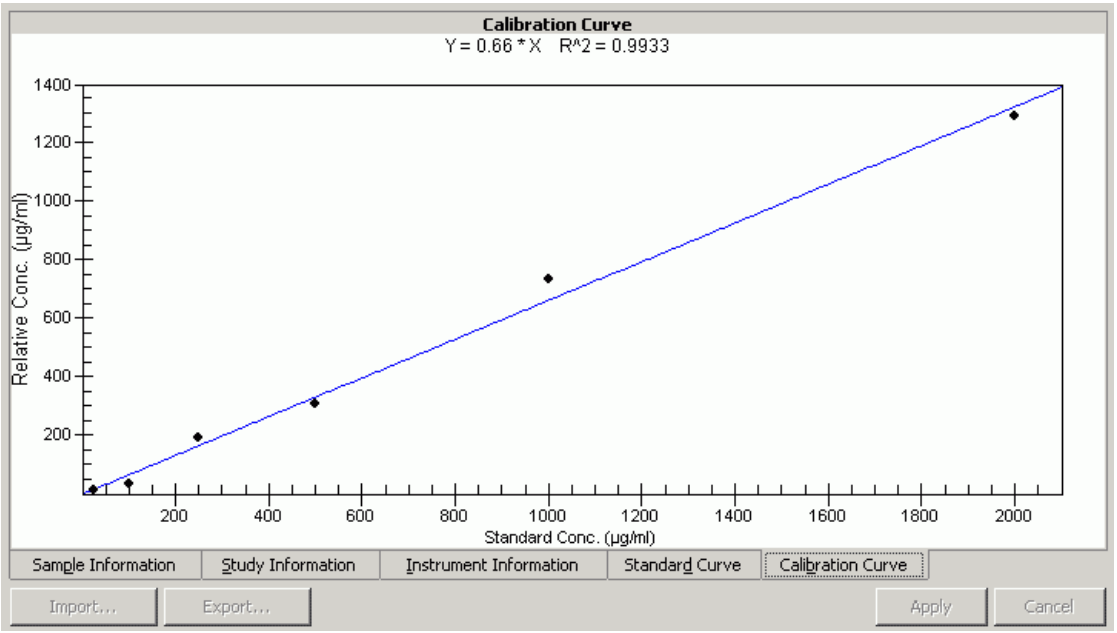
Viene realizzata una curva standard dei tempi di migrazione contro la dimensione dallo standard di dimensionamento per interpolazione.

Scheda secondaria *Standard Curve* (Curva standard) (solo analisi RNA)



Una curva standard della mobilità contro la dimensione in scala logaritmica viene stampata dallo standard di dimensionamento dell'RNA per interpolazione lineare.

Scheda secondaria *Standard Curve* (Curva standard) (solo analisi Proteina)

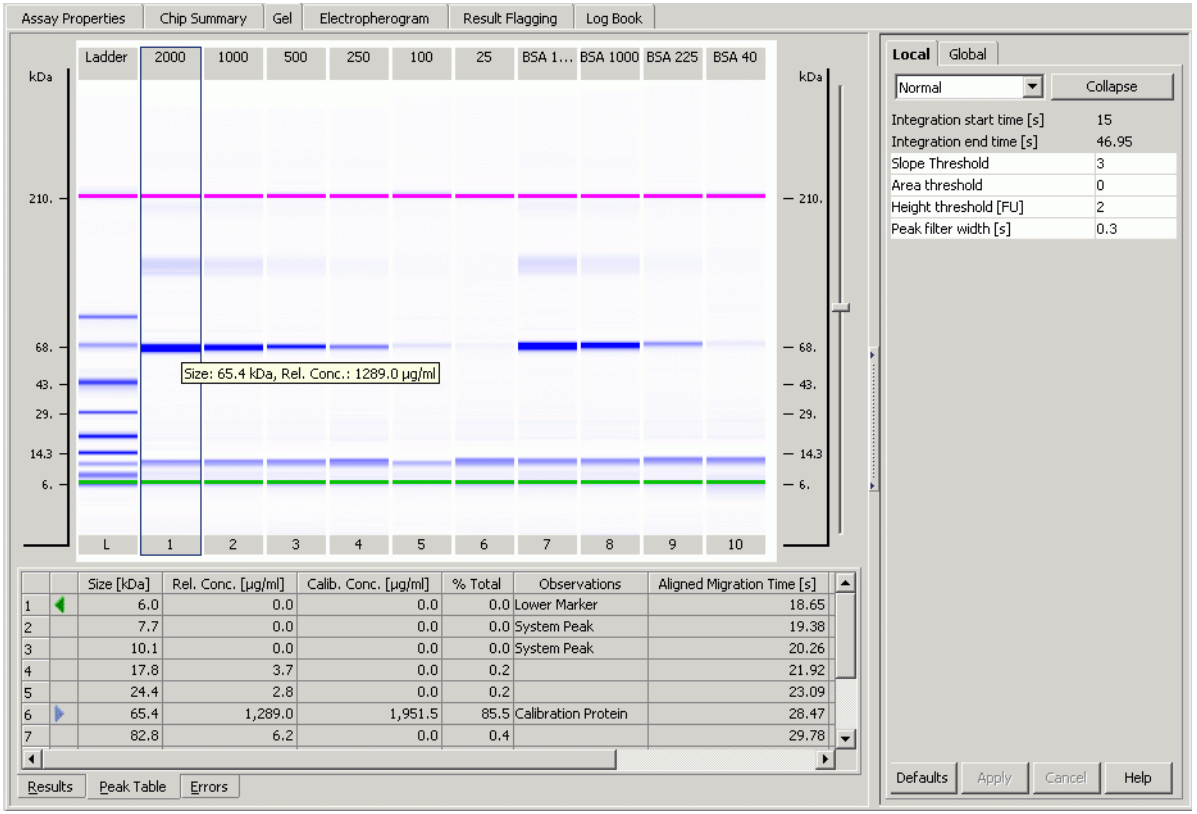


Se sul chip è stata aggiunta una proteina standard ed è stata selezionata l'opzione *Use For Calibration* (Usa per la calibrazione) sulla Scheda secondaria *Sample Information* (Informazioni sul campione) viene calcolata una curva di calibrazione. Vedere la figura sopra riportata come esempio. Questa scheda secondaria è disponibile solo per le analisi della proteina.

Scheda Gel

Scopo

La scheda *Gel* mostra immagini gel-simili dello standard e di tutti i campioni di un chip.



Nelle schede secondarie poste sotto l'immagine gel-simile, è possibile trovare i dati analizzati di ogni singolo campione. Per ulteriori analisi, è possibile utilizzare il navigatore delle impostazioni sulla destra, per modificare le impostazioni delle analisi dei dati per il campione *attuale* (scheda *Local* (Locale)) o per *tutti* i campioni (scheda *Global* (Generale)).

Accesso

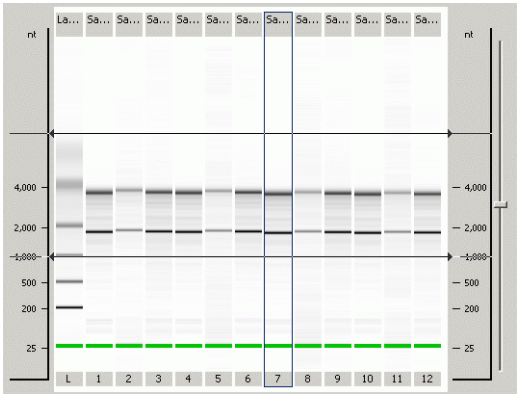
La scheda *Gel* è sempre disponibile

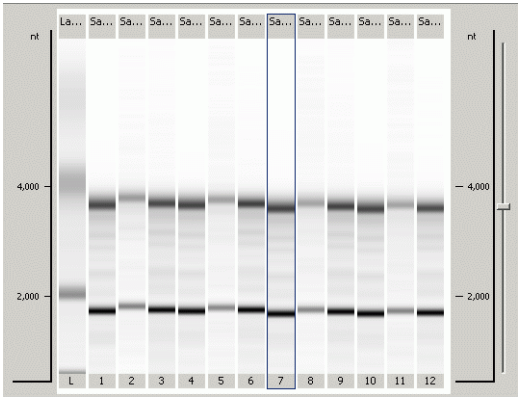
- nel contesto *Data and Assay* (Dati e analisi) se viene selezionato un file di dati di un chip elettroforetico (.xad),
- nel contesto *Comparison* (Confronto) se è stato selezionato un file di confronto o uno dei suoi campioni.

Gel View (Visualizzazione gel)

Una corsia dell'immagine gel-simile è circondata da un rettangolo. Questa è la corsia selezionata (una corsia è sempre selezionata) e corrisponde ad un pozzetto del chip; l'icona del chip sul pannello inferiore (vedere la sezione "Pannello inferiore" a pagina 465) evidenzia il pozzetto associato. Facendo clic su una corsia diversa la si seleziona e l'icona del chip si aggiorna evidenziando il pozzetto corrispondente. Facendo doppio clic su una corsia del gel selezionata, si farà apparire l'elettroferogramma del campione visualizzato.

Il cursore sul lato destro dell'immagine gel-simile consente di regolare la luminosità dell'immagine gel-simile selezionata. Per eseguire lo zoom avanti dell'immagine gel-simile, fare clic con il pulsante sinistro del mouse sul gel, tenerlo premuto e spostare la seconda linea verticale che viene visualizzata, sul punto in cui si vuole eseguire lo zoom.





NOTA

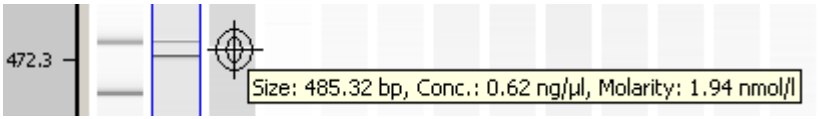
La visualizzazione dell'immagine gel-simile può essere modificata con un certo numero di diverse combinazioni di colore. Queste possono essere applicate tramite *Gel* > *Gel Color* (Gel > Colore gel). Per maggiori informazioni, vedere la sezione "Menu Gel" a pagina 400.

Quando ha inizio una nuova analisi del chip, l'immagine gel-simile è vuota e la prima corsia - il pozzetto dello standard - risulta selezionata. Dopo l'acquisizione dei dati, il rettangolo attorno alla corsia passerà da sinistra a destra evidenziando la corsia di cui si stanno acquisendo i dati in quel momento.

Comunque, se si seleziona una corsia che nella sequenza precede la corsia attuale, l'evidenziazione non cambierà di posizione quando viene analizzato un nuovo campione, ma rimarrà sulla corsia selezionata.

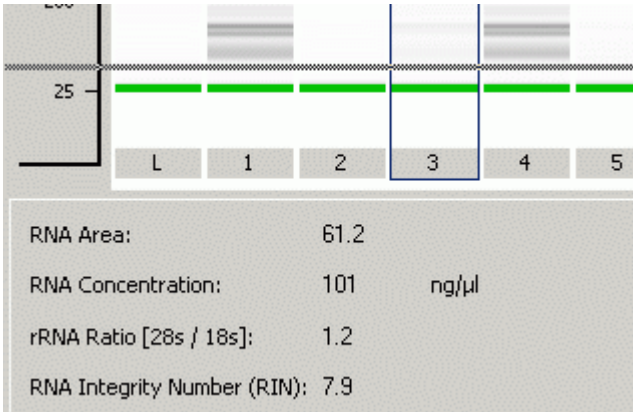
Spostando il puntatore del mouse su un'immagine gel-simile si provoca l'apparizione di dati del campione accanto ad un puntatore a croce. Quello che viene visualizzato dipende dal tipo di analisi selezionato:

- Con un'analisi del DNA, si vedranno le misurazioni delle coppie di basi per l'area della corsia sotto la croce del puntatore. Quando il cursore viene posizionato su una banda riconosciuta, la forma del cursore cambia in un mirino, ed in una casella di descrizione dei comandi appaiono la dimensione, la concentrazione e la molarità.

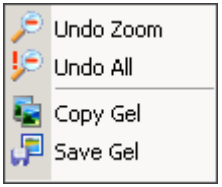


- Con l'analisi dell'RNA, viene mostrata una stima della dimensione, in termini di numero di nucleotidi (nt): sulle bande riconosciute vengono mostrate anche l'area e la percentuale rispetto all'area totale.
- Con un'analisi della proteina, la casella di descrizione dei comandi mostra la dimensione della proteina (in kDA) e la sua concentrazione relativa (in µg/ml).

La linea di divisione tra l'immagine gel-simile e le sottocartelle può essere spostata in direzione verticale per dare più o meno spazio ad una delle due parti:



Facendo clic con il pulsante destro sull'immagine gel-simile, viene visualizzato il seguente menu:



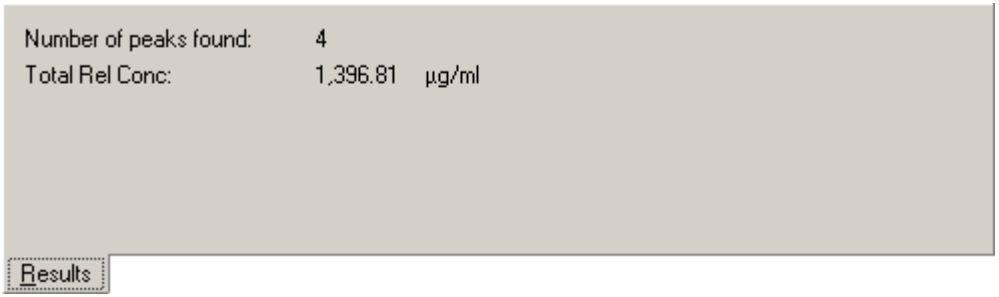
Sono disponibili le seguenti funzioni:

Undo Zoom (Annulla zoom)	Annulla l'ultima azione di zoom, panoramica o ridimensionamento.
Undo All (Annulla tutti)	Annulla tutte le azioni di zoom, pan e ridimensionamento.

Copy Gel (Copia gel)	Mette una copia del grafico del gel (di tutti i campioni) negli appunti.
Save Gel (Salva gel)	Apre una finestra di dialogo di sistema che consente di salvare il grafico del gel (tutti i campioni) come immagine in formato JPEG (.jpg), Windows Bitmap (.bmp) o Tagged Image File Format(.tif).

Scheda secondaria Results (Risultati)

Per le analisi di DNA e proteina, viene mostrato il *Number of peaks found* (Numero di picchi trovati).

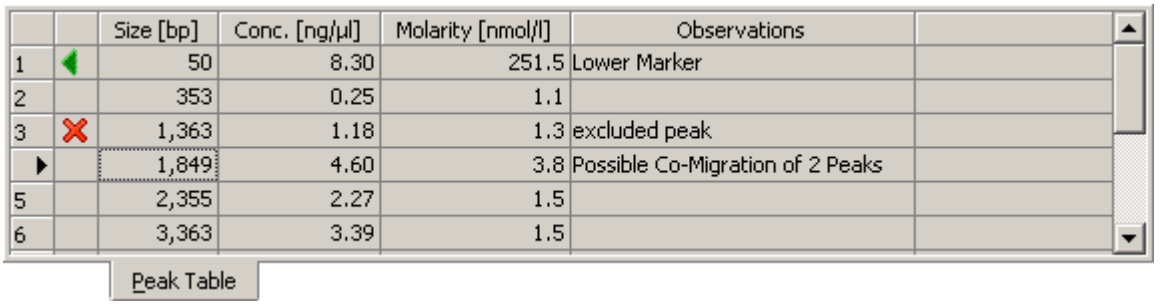


Per le analisi delle proteine, viene mostrata anche la concentrazione relativa totale (*Total Rel. Conc.)* in µg/ml.

Per le analisi dell'RNA, vengono mostrate l'*RNA Area*, e l'*RNA Concentration* in pg/µl o ng/µl, il rapporto ribosomiale (16S/23S or 18S/28S), l'*RNA integrity number (RIN)* e la percentuale di *rRNA Contamination* (mRNA) trovata nei campioni.

Scheda secondaria Peak Table (Tabella dei picchi)

Per ogni picco (riga), la tabella mostra un numero di valori calcolati (colonne).



		Size [bp]	Conc. [ng/µl]	Molarity [nmol/l]	Observations
1		50	8.30	251.5	Lower Marker
2		353	0.25	1.1	
3		1,363	1.18	1.3	excluded peak
▶		1,849	4.60	3.8	Possible Co-Migration of 2 Peaks
5		2,355	2.27	1.5	
6		3,363	3.39	1.5	

Peak Table

I dati analizzati dipendono dal tipo di analisi:

- **DNA**

  Le colonne predefinite sono:

Peak Number (Numero del picco) (colonna all'estrema sinistra)	L'ordine in cui i picchi sono stati rilevati.
Second column (Seconda colonna)	I simboli presenti in questa colonna indicano il tipo di picco (ad esempio, marker superiore o inferiore).
Size [bp] *(Dimensione [bp])*	Il numero calcolato di coppie di basi di DNA.
Conc. [ng/µl]	La concentrazione in nanogrammi per microlitro di ogni frammento (Derivata dal rapporto tra area/conc. con il marker superiore, lo stesso per tutti i picchi dello standard).

Molarity (nmol/l) (Molarità (nmol/l))	$\text{Molarity} = \frac{\text{Concentration} \times 10^6}{660 \times \text{Size}}$ Dove: La concentrazione viene misurata in nanogrammi per microlitro (ng/µl). La dimensione viene misurata in coppie di basi (bp), 660 è il peso molecolare di una singola coppia di basi.
Observations (Osservazioni)	Informazioni aggiuntive sul picco come ad esempio possibili comigrazioni o indicazioni sui frammenti attesi.

- **RNA**

  Le colonne predefinite sono:

Peak Number (Numero del picco) (colonna all'estrema sinistra)	L'ordine in cui i picchi sono stati rilevati.
Second column (Seconda colonna)	I simboli presenti in questa colonna indicano il tipo di picco (per esempio, marker inferiore).
Time corrected area (Area corretta)	L'area del picco viene corretta in base al tempo di migrazione ed alla linea di base.

- **Protein (Proteina)**

  Le colonne predefinite sono:

Peak Number (Numero del picco) (colonna all'estrema sinistra)	L'ordine in cui i picchi sono stati rilevati.
Second column (Seconda colonna)	I simboli presenti in questa colonna indicano il tipo di picco (ad esempio, marker superiore o inferiore).
Size [kDa] (Dimensione [kDa])	La dimensione della proteina misurata in kilodalton.
Rel. Conc. [µg/ml]	Concentrazione relativa di proteina misurata in microgrammi per millilitro, derivata dal rapporto con il marker superiore. La concentrazione può essere fornita solo come concentrazione relativa, perché il legame con il colorante differisce da proteina a proteina. Per la quantificazione assoluta utilizzare le proteine di calibrazione.
Calib. Conc. [µg/ml]	Concentrazione calibrata della proteina di calibrazione nello standard, o della proteina calibrata nel campione.

% total (% totale)	La percentuale di area del singolo picco confrontata con la somma totale dell'area di tutti i picchi del campione (esclusi marker e picchi di sistema).
Observations (Osservazioni)	Informazioni aggiuntive sul picco come ad esempio possibili comigrazioni o indicazioni sui frammenti attesi o proteina di calibrazione.

NOTA

È possibile includere ulteriori colonne ed anche escludere colonne dalla tabella dei picchi. Fare clic con il pulsante destro del mouse sulla riga del titolo della tabella e selezionare *Configure Columns...* (Configura colonne) sul menu del contesto. Per informazioni più dettagliate, vedere la sezione "Configure Columns... (Configura colonne)" a pagina 636.

Tipi di picco

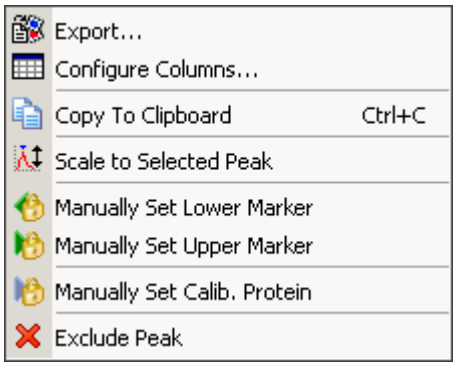
La seconda colonna della tabella dei picchi mostra dei simboli che indicano il tipo di picco:

	Picco dello standard
	Marker inferiore
	Marker superiore impostato manualmente
	Marker superiore

	Marker superiore impostato manualmente
	Proteina di calibrazione
	Proteina di calibrazione impostata manualmente
	Picco escluso

Menu Context (Contesto)

Facendo clic con il pulsante destro sulla tabella dei picchi, viene visualizzato il seguente menu:



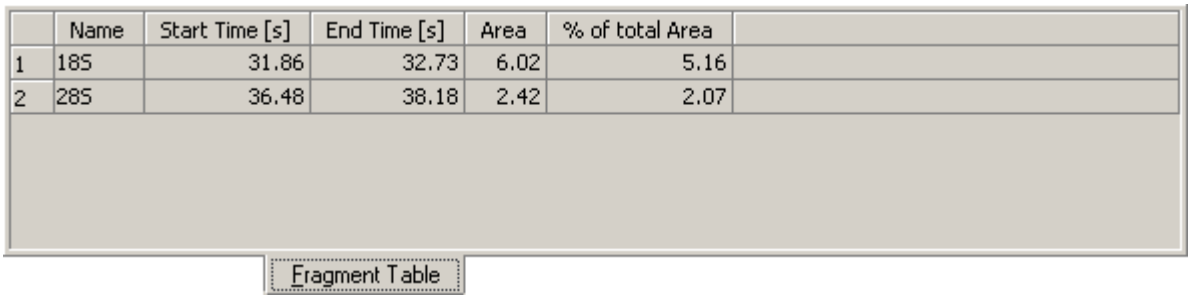
Sono disponibili le seguenti funzioni:

Export... (Esporta)	Apre una finestra di dialogo del sistema che consente di salvare la tabella dei picchi come file .csv o .xls.
Configure Columns... (Configura colonne)	Apre la finestra di dialogo *Configure Columns... (Configura colonne)*.
Copy To Clipboard (Copia negli appunti)	Mette la tabella dei picchi negli appunti. La tabella può essere anche incollata in un'altra applicazione, come ad esempio MS Excel®. Se viene selezionata una parte della tabella, verrà copiata solo questa parte.
Scale to Selected Peak (Riscala in base al picco selezionato) (solo elettroferogramma)	Adatta la scala dell'asse Y. Il picco selezionato viene visualizzato con l'altezza massima. Altri picchi possono risultare tagliati fuori in altezza.
Manually Set Lower Marker (Imposta manualmente marker inferiore)	Trasforma il picco selezionato nel marker inferiore.

Manually Set Upper Marker (Imposta manualmente marker superiore) (solo per le analisi DNA e Proteina)	Trasforma il picco selezionato nel marker superiore.
Manually Set Calib. Protein (Proteina) (solo analisi della proteina)	Trasforma il picco selezionato in una proteina di calibrazione.
Calibrate Protein (Calibra proteina) (solo analisi della proteina)	Il picco selezionato verrà calibrato.
Exclude Peak (Escludi picco)	Esclude il picco dall'analisi, per il campione.

Scheda secondaria Fragment Table (Tabella dei frammenti) (solo analisi RNA)

Per ogni picco (riga), la tabella mostra i risultati di frammenti predefiniti/specifici.



	Name	Start Time [s]	End Time [s]	Area	% of total Area
1	18S	31.86	32.73	6.02	5.16
2	28S	36.48	38.18	2.42	2.07

Fragment Table

Per predefinizione, vengono visualizzate tutte le colonne disponibili.

Fragment Number (Numero del frammento (colonna all'estrema sinistra)	L'ordine in cui i frammenti sono stati rilevati.
Name (Nome)	Un nome assegnato dall'utente, o predefinito, al frammento trovato. Tipicamente 16S/23S per analisi procariote o 18S/28S per analisi eucariote.
Start Time [s] (Tempo iniziale [s])	Mostra il tempo iniziale del picco, in secondi.

End Time [s] *(Tempo finale [s])*	Mostra il tempo finale del picco, in secondi. I tempi iniziale e finale sono anche rappresentati sull'elettroferogramma da punti a forma di rombo posti sulla linea di base del picco e dello stesso colore mostrato sulla tabella dell'RNA. Trascinando uno di questi punti si modificherà il tempo iniziale o finale ed anche il disegno della linea di base tra i due punti.
Area (Area)	L'area del singolo frammento misurata in coppie di basi.
% of total Area *(% di area totale)*	La percentuale di area del singolo frammento confrontata con l'area totale dell'RNA misurato sopra alla linea di base.

Possono essere inseriti frammenti aggiuntivi facendo clic con il pulsante destro del mouse sull'elettroferogramma.

NOTA

È anche possibile escludere colonne dalla tabella dei frammenti. Fare clic con il pulsante destro del mouse sulla riga del titolo della tabella e selezionare *Configure Columns...* (Configura colonne) sul menu del contesto. Per informazioni più dettagliate, vedere la sezione "Configure Columns... (Configura colonne)" a pagina 636.

Scheda secondaria Errors (Errori)

Visualizza *Codice*, *Descrizione* e *Categoria* degli errori avvenuti durante la misurazione o l'analisi dei dati.

La maggior parte degli errori è il risultato della mancata individuazione dei picchi da parte degli algoritmi di analisi del software. Questo può essere dovuto ad un picco del campione o dello standard che non viene visualizzato nel punto atteso; anche le impostazioni di analisi dei dati (vedi di seguito, navigatore impostazioni) possono causare la mancata rilevazione di un picco e provocare pertanto un errore. Inoltre, l'esclusione manuale di un picco dall'analisi o la modifica dei tempi iniziale o finale, può provocare errori con l'algoritmo di ricerca dei picchi.

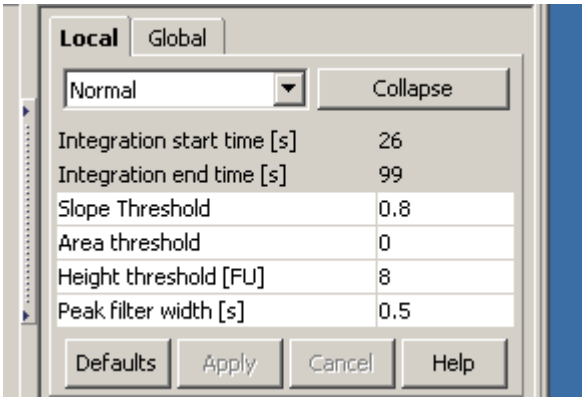
Per le analisi dell'RNA, l'analisi dei dati rileva diversi segnali inaspettati, che disturbano il calcolo del *numero d'integrità dell'RNA (RIN)*. Per informazioni più dettagliate, vedere la sezione "Calcolo delle anomalie del numero d'integrità e del segnale dell'RNA" a pagina 121.

Setpoint Explorer (Navigatore delle impostazioni)

Per visualizzare il navigatore delle impostazioni, fare clic sulla barra verticale posta sul lato destro della finestra dell'applicazione:



Viene visualizzato il navigatore delle impostazioni.



È possibile utilizzare il navigatore delle impostazioni per modificare le impostazioni delle analisi dei dati per il campione *attuale* (scheda *Local* (Locale)) o per *tutti* i campioni (scheda *Global* (Generale)).

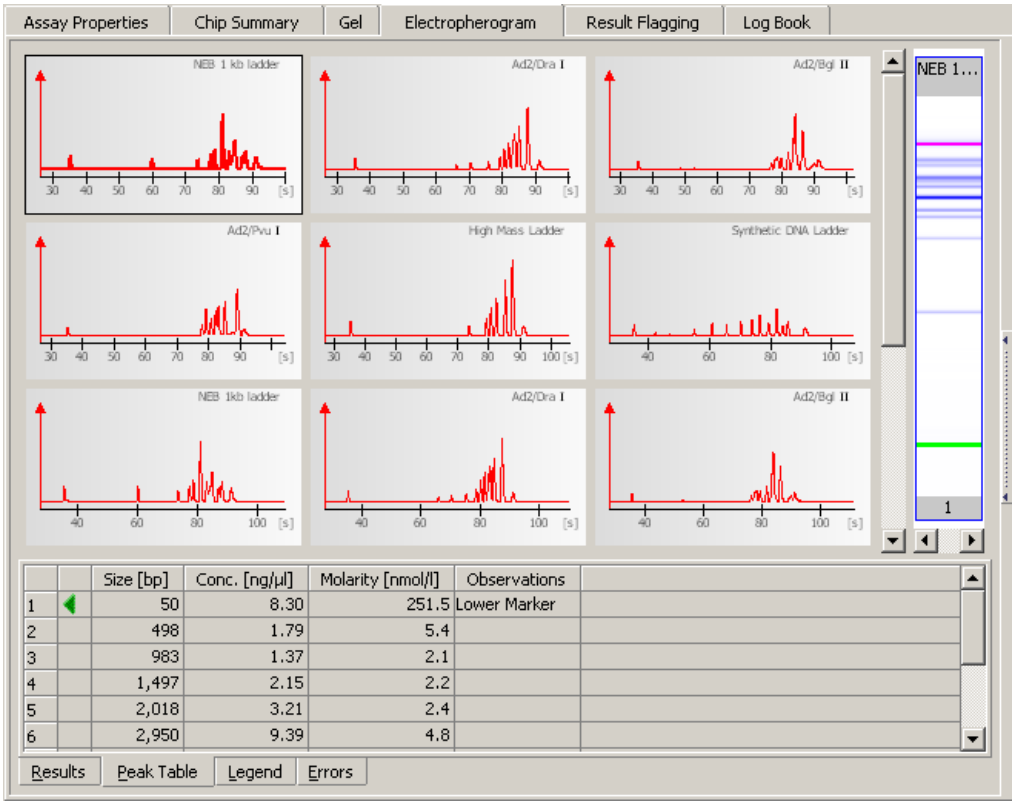
Per informazioni dettagliate sul navigatore delle impostazioni, vedere la sezione "Scheda Assay Properties (Proprietà d'analisi)" a pagina 487 e "Modifica dell'analisi dei dati" a pagina 140.

Scheda Electropherogram (Single/Grid View) (Elettroferogramma (Visualizzazione singola/griglia))

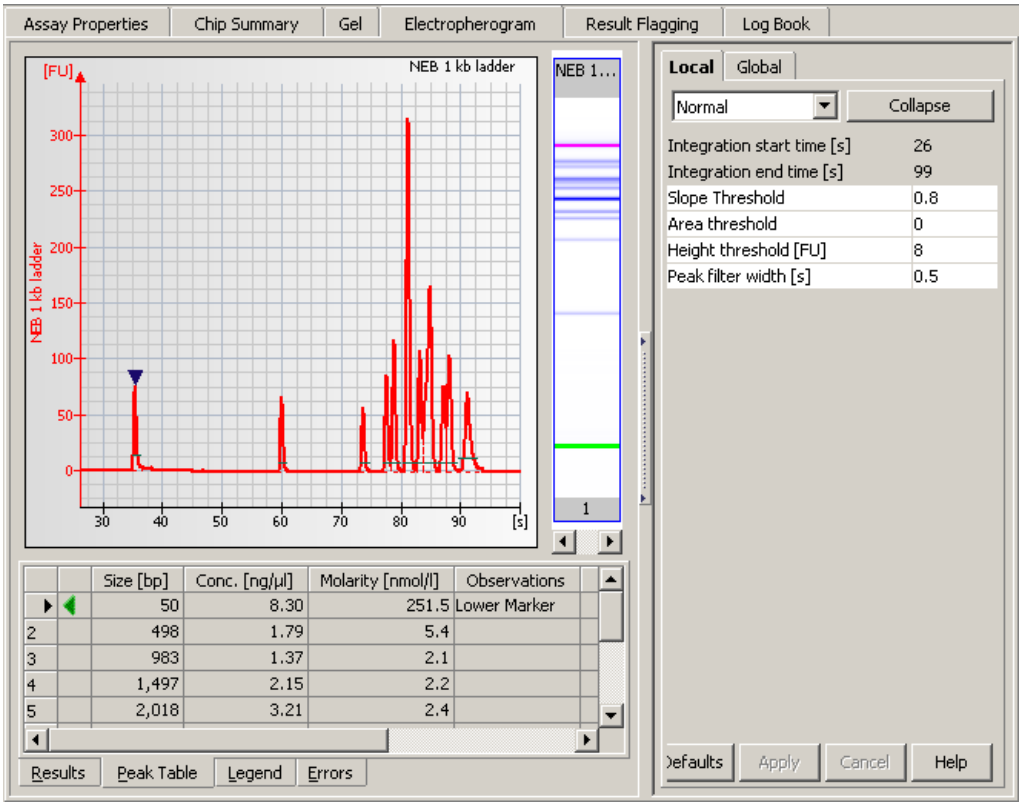
Scopo

La scheda *Electropherogram* (Elettroferogramma) mostra gli elettroferogrammi di tutti i campioni (compreso lo standard) di un chip, per tutti i campioni (visualizzazione a griglia) o per un singolo campione (visualizzazione singola). Gli elettroferogrammi sono grafici risultanti dal tempo di migrazione rispetto alle unità fluorescenti.

Grid View (Visualizzazione a griglia)



Single View (Visualizzazione singola)



Accesso

La scheda *Electropherogram* (Elettroferogramma) è sempre disponibile

- Nel contesto *Data and Assay* (Dati e analisi) se viene selezionato un file di dati di un chip elettroforetico (.xad),
- Nel contesto *Comparison* (Confronto) se è stato selezionato un file di confronto o uno dei suoi campioni.

Electropherogram View (Visualizzazione elettroferogramma)

In *Grid View* (Visualizzazione a griglia) si vedono gli elettroferogrammi di tutti i campioni (compreso lo standard) nello stesso momento. L'elettroferogramma del campione selezionato è circondato da un rettangolo nero. La piccola immagine gel-simile sul pannello inferiore (vedere la sezione "Pannello inferiore" a pagina 465) evidenzia il pozzetto associato.

In *Single View* (Visualizzazione singola) gli elettroferogrammi di campioni diversi della stessa analisi del chip possono essere sovrapposti. Per confrontare campioni provenienti da diverse analisi del chip, vedere la sezione "Confronto tra campioni provenienti da differenti analisi del chip" a pagina 169.

In entrambi i tipi di visualizzazione (*Single View* e *Grid View*), è possibile anche eseguire lo zoom avanti per vedere più da vicino i dati del grafico. Fare clic e trascinare con il mouse per disegnare un rettangolo che delimiti l'area che si desidera vedere più in dettaglio. Questa area si ingrandirà fino a riempire tutta l'area del display. Annullare lo zoom facendo doppio clic o utilizzando lo strumento di annullamento dello zoom. La linea di divisione tra il grafico dell'elettroferogramma e le sottocartelle può essere spostata in direzione verticale per dare più o meno spazio ad una delle due parti.

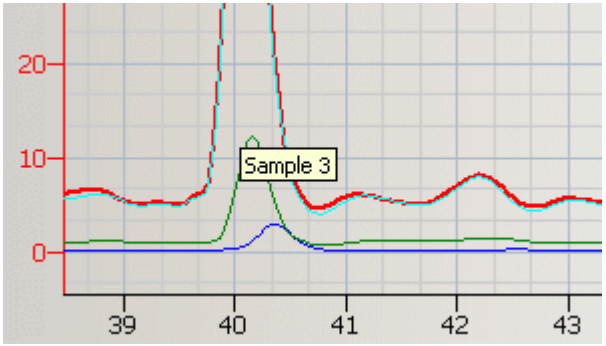
Gli elettroferogrammi sono denominati con il nome del campione.

Sulla destra dell'elettroferogramma/i, viene mostrata un'immagine gel-simile del campione (selezionato), che può essere utilizzata anch'essa per eseguire lo zoom avanti dell'elettroferogramma.

Nelle schede possibili, è possibile trovare i dati analizzati di ogni singolo campione. Per ulteriori analisi, può essere utilizzato il navigatore delle impostazioni sulla destra per modificare le impostazioni dell'analisi dei dati.

All'inizio dell'analisi del chip, l'elettroferogramma sarà vuoto. Dopo l'acquisizione, i dati vengono tracciati gli elettroferogrammi uno per uno, mentre le tabelle dei risultati vengono riempite con i dati della misurazione analizzati.

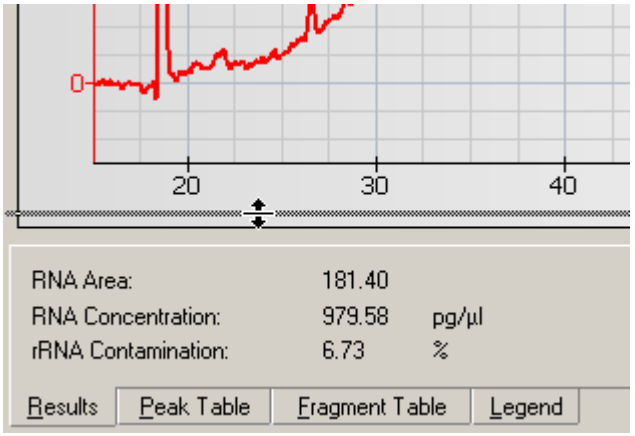
Spostando il puntatore del mouse su una delle curve degli elettroferogrammi, mostra il nome del campione come viene visualizzato nella scheda *Chip Summary* (Riassunto del chip). Questo è particolarmente utile nel caso di elettroferogrammi sovrapposti:



Quando si sposta il puntatore del mouse sulla punta di un picco, cambia la sua forma in una croce e mostra i dati analizzati per quel picco (analisi DNA e Proteina):

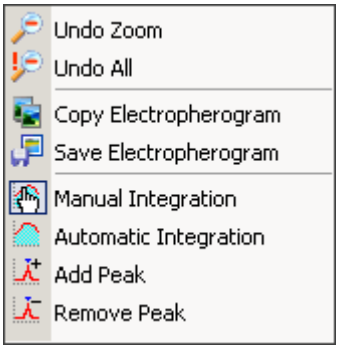


La linea di divisione tra i grafici degli elettroferogrammi e le sottocartelle può essere spostata in direzione verticale per dare più o meno spazio ad una delle due parti:

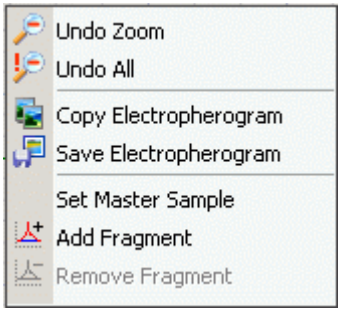


Facendo clic con il pulsante destro sull'elettroferogramma, viene visualizzato il seguente menu:

- Per le analisi DNA e Proteina:



- Per le analisi RNA:



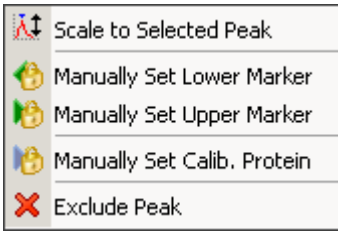
Sono disponibili le seguenti funzioni:

Undo Zoom (Annulla zoom)	Annulla l'ultima azione di zoom, panoramica o ridimensionamento.
Undo All (Annulla tutti)	Annulla tutte le azioni di zoom, pan e ridimensionamento.

Copy Electropherogram (Copia elettroferogramma)	Mette una copia dell'elettroferogramma negli appunti (solo visualizzazione singola). Nella visualizzazione multipozzetto vengono copiati tutti gli elettroferogrammi.
Save Electropherogram (Salva elettroferogramma)	Apre una finestra di dialogo di sistema che consente di salvare l'elettroferogramma (visualizzazione singola) o tutti gli elettroferogrammi (visualizzazione multipozzetto) come immagine in formato JPEG (.jpg), Windows Bitmap (.bmp), Windows Meta File (.wmf), CompuServe Graphics Interchange (.gif), o Tagged Image File (.tif).
Manual Integration (Integrazione manuale) (solo per le analisi DNA e Proteina)	Passa alla modalità d'integrazione manuale dei picchi. In questa modalità è possibile: • Modificare i punti iniziale e finale della linea di base di un determinato picco • Aggiungere o eliminare determinati picchi dall'integrazione
Automatic Integration (Integrazione automatica) (solo per le analisi DNA e Proteina)	Passa alla modalità d'integrazione automatica (tutte le integrazioni manuali andranno perse).

Add Peak (Aggiungi picco) (solo modalità d'integrazione manuale dei picchi)	Inserisce un nuovo picco nella posizione attuale.
Remove Peak (Rimuovi picco) (solo modalità d'integrazione manuale dei picchi)	Elimina i picchi selezionati. Solo i picchi aggiunti manualmente possono essere eliminati.
Add Fragment (Aggiungi frammento) (solo analisi RNA)	Scheda secondaria *Fragment Table* (Tabella dei frammenti): inserisce un nuovo frammento nella posizione attuale.
Remove Fragment (Rimuovi frammento) (solo analisi RNA)	Scheda secondaria *Fragment Table* (Tabella dei frammenti): elimina un frammento selezionato.

Facendo clic con il pulsante destro sulla punta di un picco, viene visualizzato il seguente menu:



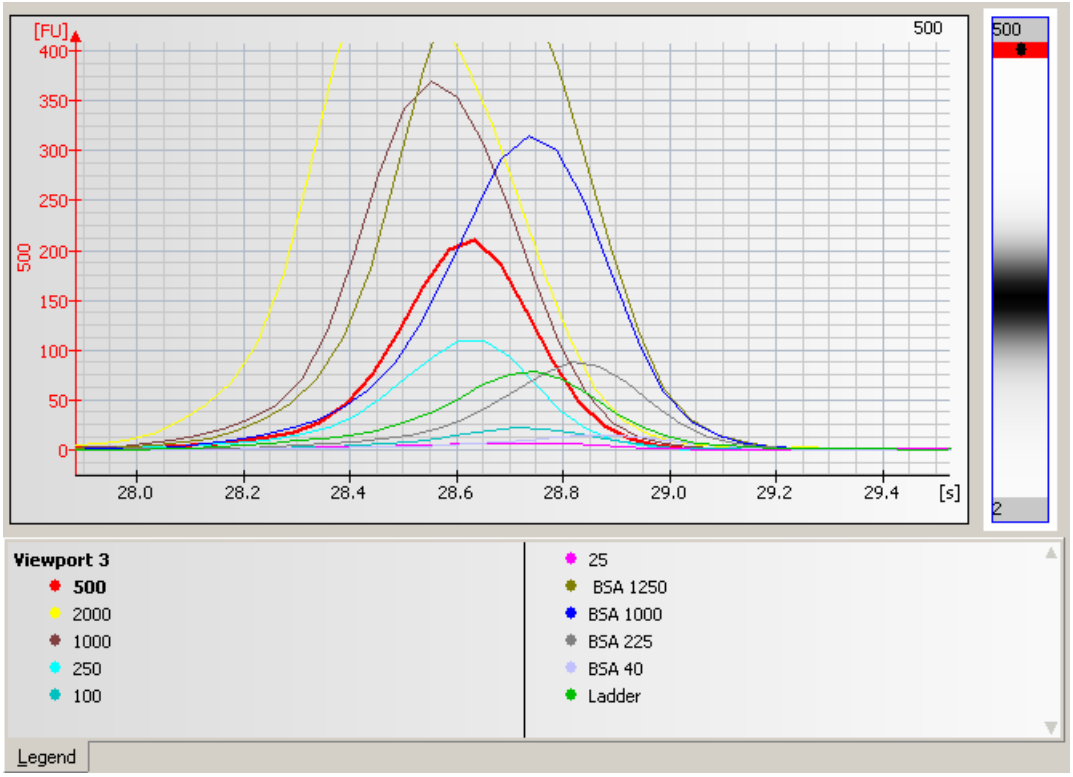
Sono disponibili le seguenti funzioni:

Scale to Selected Peak (Riscala in base al picco selezionato)	Adatta la scala dell'asse Y. Il picco selezionato viene visualizzato con l'altezza massima. Altri picchi possono risultare tagliati fuori in altezza.
Manually Set Lower Marker (Imposta manualmente marker inferiore)	Trasforma il picco selezionato nel marker inferiore.
Manually Set Upper Marker (Imposta manualmente marker superiore)	Trasforma il picco selezionato nel marker superiore.
Calibrate Protein (Calibra proteina) (solo analisi della proteina)	Il picco selezionato verrà calibrato.

Manually Set Calib. (Calibrazione impostata manualmente) Protein (solo analisi della proteina)	Trasforma il picco selezionato nella proteina di calibrazione.
Exclude Peak (Escludi picco)	Esclude il picco dall'analisi, per il campione.

Scheda secondaria Legend (Legenda)

Per confrontare i campioni, gli elettroferogrammi di diversi campioni possono essere sovrapposti. Ogni elettroferogramma sarà quindi visualizzato in un colore differente ed apparirà una legenda dei colori sulla scheda *Legend* (Legenda). Questo consente di assegnare facilmente le curve ai campioni.



I colori degli elettroferogrammi possono essere cambiati nella finestra di dialogo *Options* (Opzioni), vedere la sezione "Options – Graph Settings (Opzioni – Impostazioni grafiche)" a pagina 592.

Schede secondarie Results (Risultati), Peak Table (Tabella dei picchi) e Fragment Table (Tabella dei frammenti)

Le sottocartelle *Results* (Risultati), *Peak Table* (Tabella dei picchi) e *Fragment Table* (Tabella dei frammenti) funzionano qui esattamente come nella visualizzazione a gel. Per dettagli relativi a queste sottocartelle, vedere la sezione "Scheda Gel" a pagina 509.

Scheda secondaria Errors (Errori)

Visualizza *Codice*, *Descrizione* e *Categoria* degli errori avvenuti durante la misurazione o l'analisi dei dati.

La maggior parte degli errori è il risultato della mancata individuazione dei picchi da parte degli algoritmi di analisi del software. Questo può essere dovuto ad un picco del campione o dello standard che non viene visualizzato nel punto atteso; anche le impostazioni di analisi dei dati (vedi di seguito, navigatore impostazioni) possono causare la mancata rilevazione di un picco e provocare pertanto un errore. Inoltre, l'esclusione manuale di un picco dall'analisi o la modifica dei tempi iniziale o finale, può provocare errori con l'algoritmo di ricerca dei picchi.

Per le analisi dell'RNA, l'analisi dei dati rileva diversi segnali inaspettati, che disturbano il calcolo del *numero d'integrità dell'RNA (RIN)*. Per informazioni più dettagliate, vedere la sezione "Calcolo delle anomalie del numero d'integrità e del segnale dell'RNA" a pagina 121.

Setpoint Explorer (Navigatore delle impostazioni)

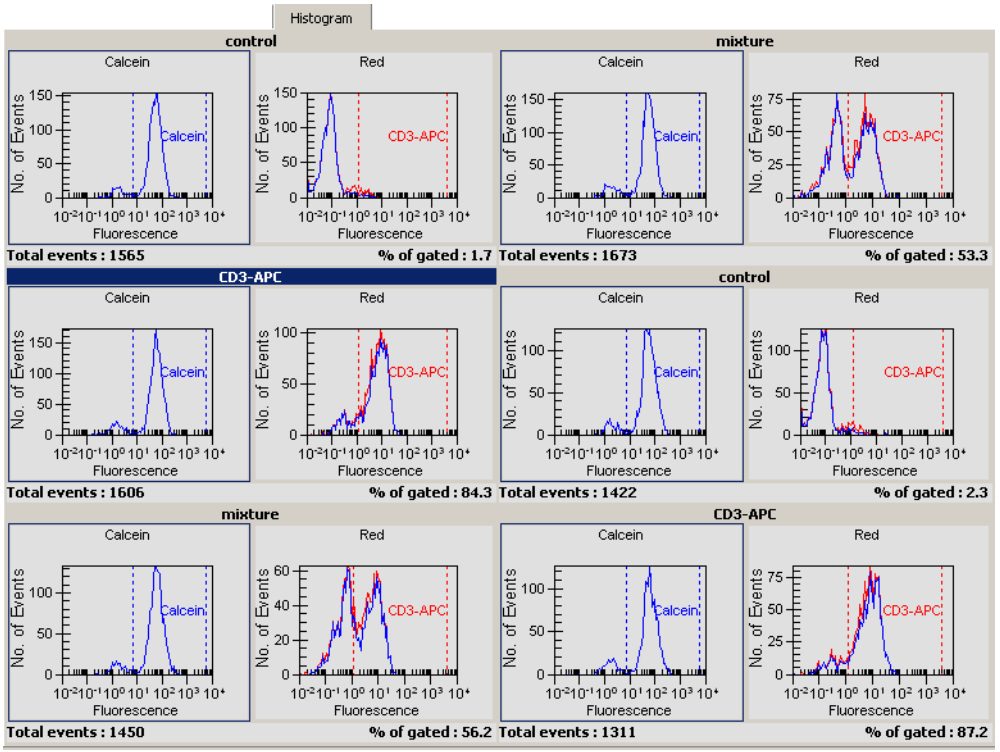
Per analizzare i risultati, si può utilizzare il navigatore delle impostazioni per modificare le impostazioni d'analisi dei dati per il campione *attuale* (scheda *Local*) o per *tutti* i campioni (scheda *Global*). Per informazioni sul suo utilizzo, vedere la sezione "Scheda Gel" a pagina 509.

Scheda Histogram (Single/Grid View) (Istogramma (Visualizzazione singola/a griglia))

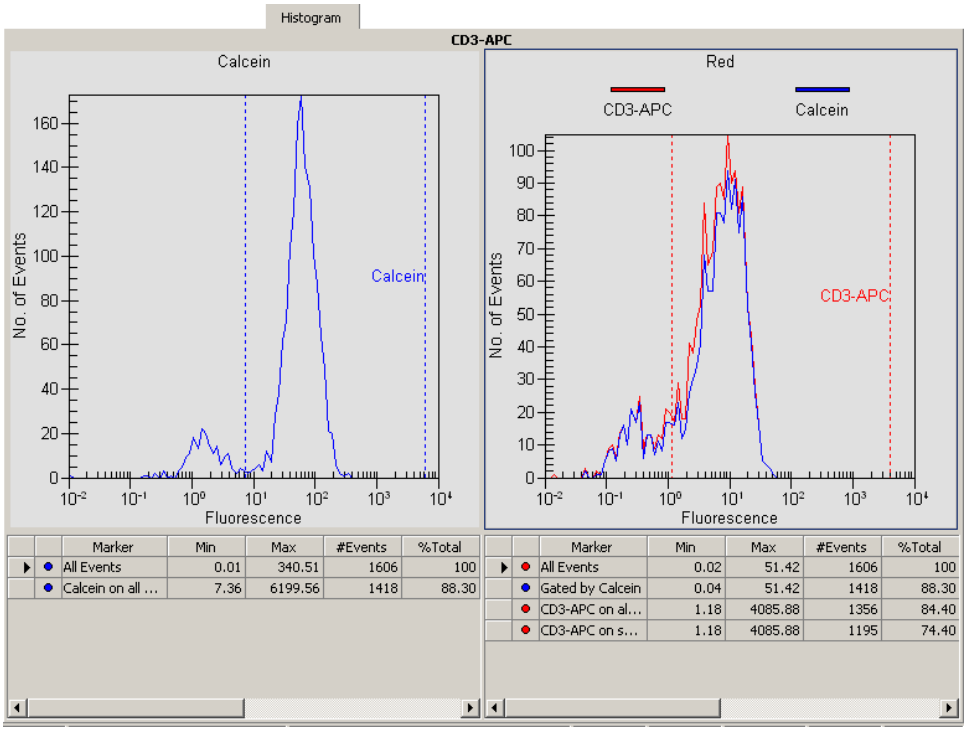
Scopo

Vengono realizzati istogrammi dell'intensità di fluorescenza rispetto al numero di eventi rilevati (cellule rilevate). Per ogni campione del chip, la scheda *Histograms* (Istogrammi) mostra due istogrammi, uno per la colorazione blu (istogramma di sinistra) ed uno per la rossa (istogramma di destra), per tutti i 6 campioni (visualizzazione a griglia) o per un singolo campione (visualizzazione singola).

Grid View (Visualizzazione a griglia)



Single View (Visualizzazione singola)



Accesso

La scheda *Histogram* (Istogramma) è sempre disponibile nel contesto *Data and Assay* (Dati e analisi) se viene selezionato un file di dati di un chip citometrico a flusso o un file di analisi.

È possibile passare tra le diverse visualizzazioni degli istogrammi scegliendo *Single View* (Visualizzazione singola) o *Grid View* (Visualizzazione singola) sul menu *Histogram* (Istogramma).

Histogram View (Visualizzazione istogramma)

Gli istogrammi sono rappresentazioni grafiche dei risultati delle misurazioni, dove il numero di eventi viene riportato sull'asse Y ed i loro valori di fluorescenza sull'asse X. L'asse X può essere logaritmico o lineare. Le curve risultanti mostrano la distribuzione di frequenza degli eventi in relazione ai valori della loro intensità di fluorescenza.

Nella *Grid View* (Visualizzazione a griglia) viene mostrata una panoramica di tutti i campioni. I piccoli istogrammi sono identificati dal nome del campione e, sotto di essi, è possibile leggere il numero totale di eventi ed il valore % degli eventi coperti. È possibile selezionare un singolo istogramma facendo clic su di esso o spostare il centro con i tasti freccia.

Facendo doppio clic sull'istogramma blu o rosso, nella *Grid View* (Visualizzazione a griglia) porta alla *Single View* (Visualizzazione singola), visualizzando una vista più grande degli istogrammi ed una tabella dei risultati sotto ogni istogramma. Gli istogrammi possono essere valutati statisticamente utilizzando i marker. I marker definiscono intervalli di valori d'intensità di fluorescenza. Utilizzando un marker, un istogramma definisce un sottoinsieme di eventi (cellule). È possibile impostare marker per entrambi gli istogrammi. Solo il marker dell'istogramma di sinistra definisce un intervallo per quello di destra, ma entrambi definiscono sottoinsiemi per l'informazione statistica. Solo gli eventi che hanno un valore di fluorescenza che cade all'interno di questo intervallo vengono visualizzati nell'altro istogramma. Questo metodo è detto filtro. Per *Apoptosi* e *Colorazione degli anticorpi*, per la filtrazione viene utilizzato l'istogramma blu, mentre per le analisi *GFP* si utilizza l'istogramma rosso. Se si utilizza un'analisi *Generica*, è possibile definire i marker e la direzione da utilizzare per il filtro. Utilizzando il mouse, è possibile

regolare la posizione del marker e definire il suo nome ed il suo colore (vedere le sezioni "Come spostare i limiti inferiore e superiore dei marker" a pagina 250 e"Come configurare i marker" a pagina 248).

Result Tables (Tabelle dei risultati)

Le tabelle dei risultati mostrano un numero di valori calcolati (colonne) per ogni istogramma. Se si aggiungono o ridefiniscono i marker, i dati della tabella dei risultati vengono ricalcolati.

		Marker	Min	Max	#Events	%Total	% of gated	Mean	StdDev	CV%	GMean
▶	●	All Events	0.02	51.42	1606	100	-	8.07	7.13	88.37	4.51
	●	Gated by Calcein	0.04	51.42	1418	88.30	-	8.46	7.32	86.47	4.72
	●	CD3-APC on all events	1.18	4085.88	1356	84.40	-	9.48	6.89	72.75	7.27
	●	CD3-APC on subset	1.18	4085.88	1195	74.40	84.30	9.96	7.02	70.44	7.73

Se l'opzione *Hide superset curve... (Nascondi curva sovraimposta)* è disabilitata sul Navigatore delle impostazioni (vedere), vengono visualizzate due righe aggiuntive sulla tabella dei risultati dell'istogramma filtrato—"CD3-APC on all events" e "CD3-APC on subset" nell'esempio precedente."Scheda Assay Properties (Proprietà d'analisi)" a pagina 487. La curva sovraimposta mostra un istogramma di tutti gli eventi misurati; il filtro non viene considerato.

Le colonne predefinite sono:

Marker	Marker utilizzato come filtro o come sottoinsieme. Quando si utilizza un'analisi di tipo *Apoptosi*, per esempio, per il filtro si utilizza calceina e come sottoinsieme annexin.
Min	Valore minimo di fluorescenza del marker corrispondente.
Max	Valore massimo di fluorescenza del marker corrispondente.
#Events (N° eventi)	Numero di eventi. Per l'istogramma utilizzato come filtro, viene visualizzato il numero di tutti gli eventi.
% total (% totale)	Percentuale di eventi. Il marker utilizzato per il filtro riporta 100%, la tabella dell'istogramma filtrato mostra il valore del sottoinsieme.
% of gated (% di filtrati)	Percentuale di eventi selezionati dal marker nell'istogramma filtrato in rapporto agli eventi che hanno passato il filtro.
Mean (Media)	Valore medio di fluorescenza.
StdDev	Deviazione standard dal valore medio.
%CV	Coefficiente di variazione.
GMean	Media geometrica.

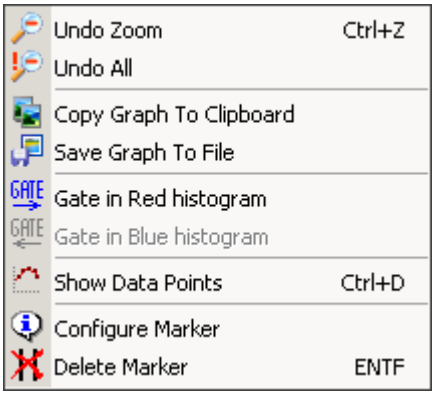
NOTA

È anche possibile escludere colonne dalla tabella dei risultati. Fare clic con il pulsante destro del mouse sulla riga del titolo della tabella e selezionare *Configure Columns...* (Configura colonne) sul menu del contesto. Per informazioni più dettagliate, vedere la sezione “Configure Columns... (Configura colonne)” a pagina 636.

Menu del contesto

In *Single View* (Visualizzazione singola) sono disponibili due menu del contesto.

Facendo clic con il pulsante destro su un *istogramma* viene visualizzato il seguente menu:

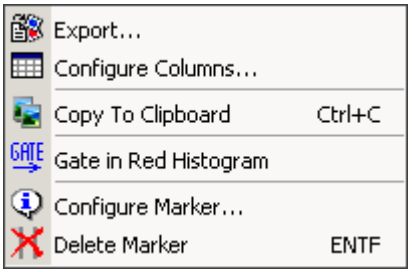


Sono disponibili le seguenti funzioni:

Undo Zoom (Annulla zoom)	Annulla l'ultima azione di zoom.
Undo All (Annulla tutti)	Annulla tutte le azioni di zoom.
Copy Graph To Clipboard (Copia grafico negli appunti)	Mette una copia dell'istogramma selezionato (blu o rosso) negli appunti.

Save Graph To File (Salva grafico su file)	Apre una finestra di dialogo di sistema che consente di salvare l'istogramma selezionato (blu o rosso) come immagine in formato Windows Meta File (.wmf), Windows Bitmap (.bmp), o JPEG (.jpg).
Gate in Red histogram (Filtro per istogramma rosso)	Utilizza il marker selezionato dell'istogramma blu per filtrare l'istogramma rosso (solo analisi generiche).
Gate in blu histogram (Filtro per istogramma blu)	Utilizza il marker selezionato dell'istogramma rosso per filtrare l'istogramma blu (solo analisi generiche).
Show Data Points (Mostra punti dei dati)	Mostra/nasconde i punti dei dati utilizzati per generare l'elettroferogramma selezionato.
Configure Marker (Configura marker)	Apre la casella di dialogo *Configure Marker (Configura marker)* (vedere la sezione "Configure Marker (Configura marker)" a pagina 638), che consente di modificare le proprietà del marker selezionato. Disponibile solo se viene selezionato un marker.
Delete Marker (Elimina marker)	Elimina il marker selezionato. Se il marker è utilizzato anche da altri istogrammi, apparirà un messaggio che richiede se si desidera rimuoverlo da tutti gli istogrammi che lo utilizzano o solo dall'istogramma attuale.

Facendo clic con il pulsante destro su una *tabella dei risultati* viene visualizzato il seguente menu:



Sono disponibili le seguenti funzioni:

Export... (Esporta)	Apre una finestra di dialogo del sistema che consente di salvare la tabella dei risultati come file .csv.
Configure Columns... (Configura colonne)	Apre la finestra di dialogo *Configure Columns... (Configura colonne)*.
Copy To Clipboard (Copia negli appunti)	Mette la tabella dei risultati negli appunti. La tabella può essere anche incollata in un'altra applicazione, come ad esempio MS Excel®. Se viene selezionata una parte della tabella, verrà copiata solo questa parte.
Gate in Red Histogram (Filtra isto-gramma rosso)	Inserisce un filtro nella direzione del filtro visualizzata (solo analisi generiche). Disponibile solo se sull'istogramma viene selezionato un marker senza filtro.

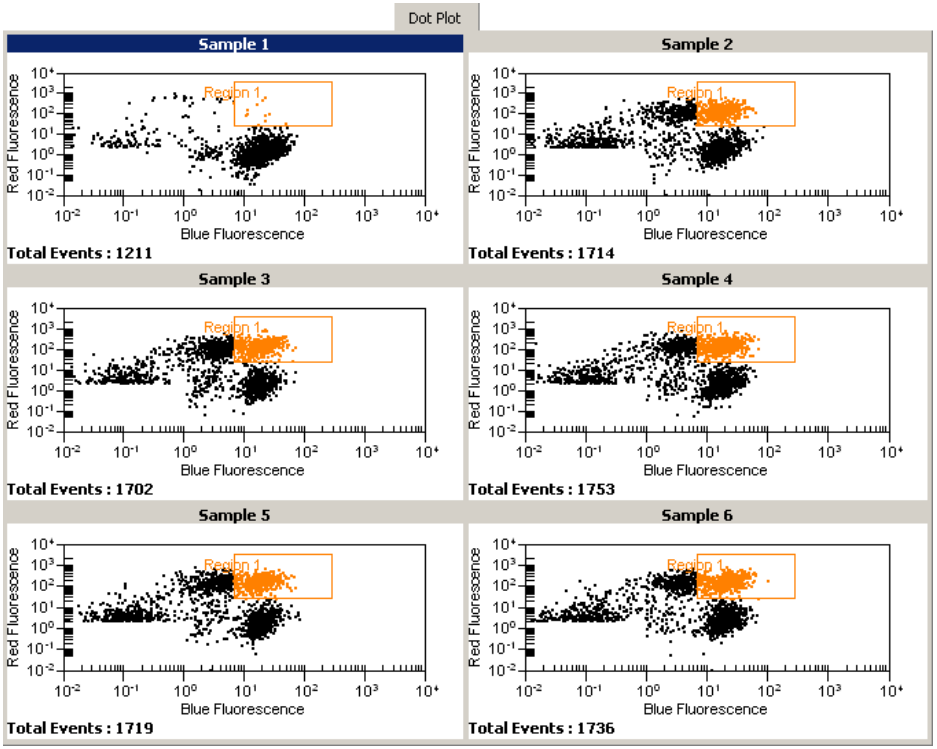
Configure Marker... (Configura marker)	Apre la finestra di dialogo *Configure Marker (Configura marker)*. Disponibile solo se viene selezionato un marker.
Delete Marker (Elimina marker)	Elimina il marker selezionato. Se il marker è utilizzato anche da altri istogrammi, apparirà un messaggio che richiede se si desidera rimuoverlo da tutti gli istogrammi che lo utilizzano o solo dall'istogramma attuale.

Scheda Dot-Plot (Single/Grid view) (Visualizzazione singola/a griglia)

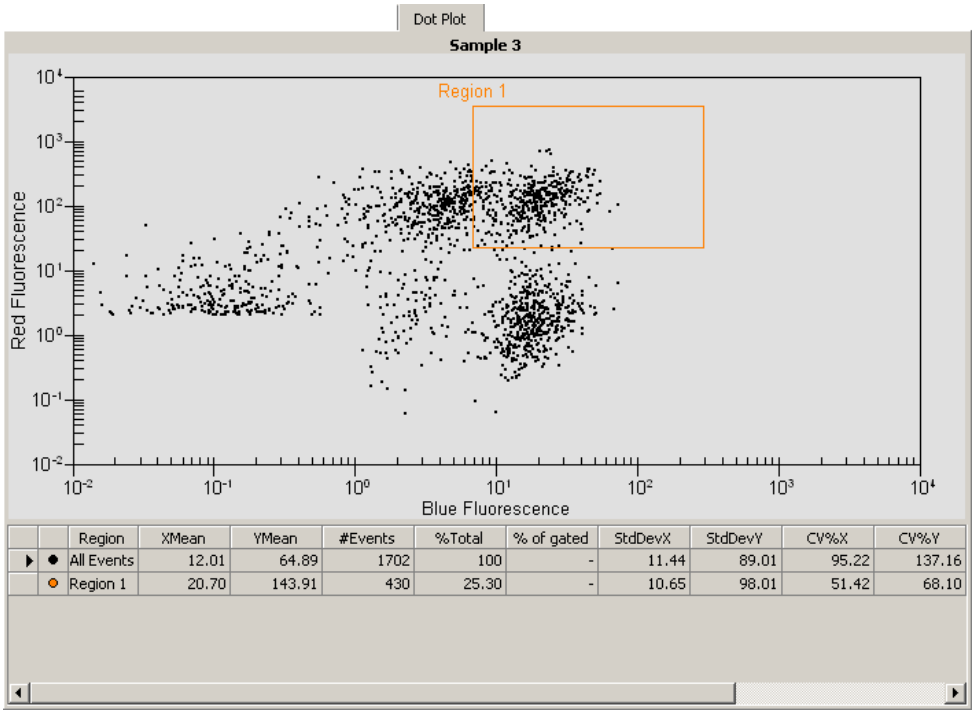
Scopo

I dot-plot mostrano eventi singoli (cellule) visualizzati come punti. Nel sistema di coordinate, può essere letto il valore di fluorescenza rossa e blu di ogni evento. Per ogni campione del chip viene visualizzato un dot-plot, per tutti i 6 campioni contemporaneamente (visualizzazione a griglia) o per un singolo campione (visualizzazione singola).

Grid View (Visualizzazione a griglia)



Single View (Visualizzazione singola)



	Region	XMean	YMean	#Events	%Total	% of gated	StdDevX	StdDevY	CV%X	CV%Y
▶	All Events	12.01	64.89	1702	100	-	11.44	89.01	95.22	137.16
	Region 1	20.70	143.91	430	25.30	-	10.65	98.01	51.42	68.10

Accesso

La scheda *Dot Plot* è sempre disponibile nel contesto *Data and Assay* (Dati e analisi) se viene selezionato un file di dati di un chip citometrico a flusso.

È possibile passare tra le diverse visualizzazioni dei dot-plot scegliendo *Single View* (Visualizzazione singola) o *Grid View* (Visualizzazione singola) sul menu *Dot Plot*.

Dot Plot View (Visualizzazione Dot Plot)

I dot-plot sono rappresentazioni grafiche dei risultati delle misurazioni, dove l'intensità della fluorescenza blu è riportata sull'asse X e l'intensità della fluorescenza rossa è riportata sull'asse Y. Entrambi gli assi sono logaritmici.

Nella *Grid View* (Visualizzazione a griglia) viene mostrata una panoramica di tutti i campioni. I piccoli dot-plot sono identificati dal nome del campione e, sotto di essi, è possibile leggere il numero totale di eventi ed il valore % degli eventi coperti. È possibile selezionare un singolo dot-plot facendo clic su di esso o spostare il centro con i tasti freccia.

Facendo doppio clic su un dot-plot, nella *Grid View* (Visualizzazione a griglia) porta alla *Single View* (Visualizzazione singola), visualizzando una vista più grande dei dot-plot ed una tabella dei risultati sotto ogni dot-plot. Per valutare i dot-plot, è possibile definire aree rettangolari di cui è possibile modificare le dimensioni e la posizione fino a corrispondere alla selezione dell'evento. Come risultato si avrà il numero di cellule compreso in un'area rispetto al numero totale di cellule. Le regioni possono essere spostate, ingrandite o ridotte. Quando si modifica un'area, tutte le modifiche vengono trasferite agli altri campioni, se l'area è un riferimento. Se l'area non è definita come riferimento, le modifiche sono limitate al campione attuale (vedere la sezione "Come inserire un'area in tutti i dot-plot" a pagina 267 per informazioni dettagliate sulle aree di riferimento).

Result Table (Tabella dei risultati)

La tabella dei risultati mostra un numero di valori calcolati (colonne) per ogni campione. Se si aggiungono o ridefiniscono le regioni, i dati della tabella dei risultati vengono ricalcolati.

		Region	XMean	YMean	#Events	%Total	% of gated	StdDevX	StdDevY	CV%X	CV%Y	X GMean	Y GMean
▶	●	All Events	61.81	8.07	1606	100	-	42.90	7.13	69.40	88.37	39.43	4.51
	○	Region 1	73.25	9.96	1195	74.40	84.30	40.70	7.02	55.56	70.44	63.48	7.73

Le colonne predefinite sono:

Region (Area)	La prima area (*All Events* (Tutti gli eventi)), visualizza sempre i valori degli eventi rilevati. Per ogni ulteriore area (vedere la sezione "Come aggiungere aree ai dot-plot (solo analisi generica)" a pagina 261), viene aggiunta una riga alla tabella.
XMean (XMedio)	Valore medio della fluorescenza in direzione x.
YMean (YMedio)	Valore medio della fluorescenza in direzione y.
#Events (N° eventi)	Numero di eventi per ogni regione inserita nel dot-plot.
% total (% totale)	Percentuale di eventi per ogni regione inserita nel dot-plot.
% of gated (% di filtrati)	% di eventi filtrati rispetto al numero totale degli eventi.
StdDevX	Deviazione standard dal valore medio di fluorescenza in direzione x.
StdDevY	Deviazione standard dal valore medio di fluorescenza in direzione y.
CV%X	Coefficiente di variazione dei valori x.

CV%Y	Coefficiente di variazione dei valori y.
X GMean	Media geometrica del valore x.
Y GMean	Media geometrica del valore y.

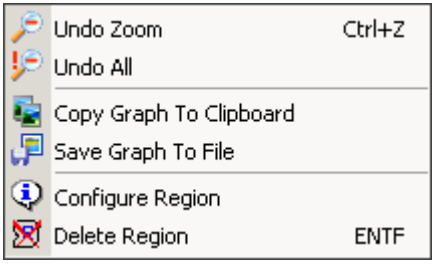
NOTA

È anche possibile aggiungere/escludere colonne dalla tabella dei risultati. Fare clic con il pulsante destro del mouse sulla tabella e selezionare *Configure Columns...* (Configura colonne) sul menu del contesto. Per informazioni più dettagliate, vedere la sezione "Configure Columns... (Configura colonne)" a pagina 636.

Menu del contesto

In *Single View* (Visualizzazione singola) sono disponibili due menu del contesto.

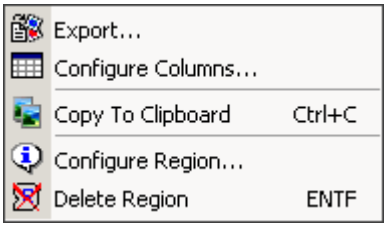
Facendo clic con il pulsante destro su un *dot-plot* viene visualizzato il seguente menu:



Sono disponibili le seguenti funzioni:

Undo Zoom (Annulla zoom)	Annulla l'ultima azione di zoom.
Undo All (Annulla tutti)	Annulla tutte le azioni di zoom.
Copy Graph To Clipboard (Copia grafico negli appunti)	Mette una copia del dot-plot selezionato negli appunti.
Save Graph To File (Salva grafico su file)	Apre una finestra di dialogo di sistema che consente di salvare il dot-plot selezionato come immagine in formato Windows Meta File (.wmf), Windows Bitmap (.bmp), o JPEG (.jpg).
Configure Region... (Configura area)	Apre la finestra di dialogo *Configure Region (Configura area)*. Disponibile solo se sull'istogramma viene selezionata un'area.
Delete Region (Elimina area)	Elimina l'area selezionata. Se l'area è utilizzata anche da altri dot-plot, apparirà un messaggio che richiede se si desidera rimuoverla da tutti i dot-plot che la utilizzano o solo dal dot-plot attuale.

Facendo clic con il pulsante destro su una *tabella dei risultati* appare il seguente menu:



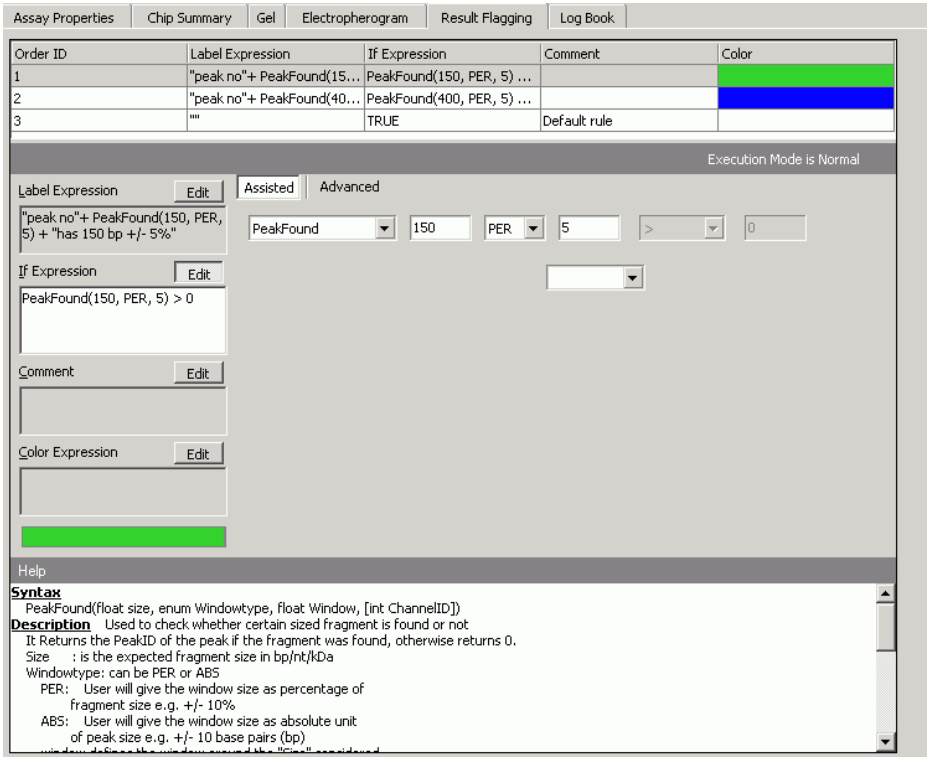
Sono disponibili le seguenti funzioni:

Export... (Esporta)	Apre una finestra di dialogo del sistema che consente di salvare la tabella dei risultati come file .csv.
Configure Columns... (Configura colonne)	Apre la finestra di dialogo *Configure Columns... (Configura colonne)*.
Copy To Clipboard (Copia negli appunti)	Mette la tabella dei risultati negli appunti. La tabella può essere anche incollata in un'altra applicazione, come ad esempio MS Excel®. Se viene selezionata una parte della tabella, verrà copiata solo questa parte.
Configure Region... (Configura area)	Apre la finestra di dialogo *Configure Region (Configura area)*. Disponibile solo se sull'istogramma viene selezionata un'area.
Delete Region (Elimina area)	Elimina l'area selezionata. Se l'area è utilizzata anche da altri dot-plot, apparirà un messaggio che richiede se si desidera rimuoverla da tutti i dot-plot che la utilizzano o solo dal dot-plot attuale.

Scheda Result Flagging (Evidenziazione dei risultati)

Scopo

Su questa scheda è possibile definire le regole di evidenziazione per i risultati delle misurazioni elettroforetiche. Ad ogni campione i cui risultati soddisfano una regola specifica sarà assegnato un particolare codice colore.



Accesso

La scheda *Result Flagging* (Evidenziazione dei risultati) è sempre disponibile nel contesto *Data and Assay* (Dati e analisi) se viene selezionato un file di dati di un chip elettroforetico o un file di analisi.

Rule List (Elenco regole)

Elenca tutte le regole di evidenziazione dei risultati definite dall'utente, che non possono essere eliminate. La *IF Expression* (Espressione SE) della regola predefinita è "TRUE" (VERO). La regola predefinita definisce un codice colore che viene assegnato al campione, per cui nessun altra regola è applicata. La colonna *Order ID* (ID Ordine) determina la sequenza in cui le regole vengono applicate al campione. Le altre colonne mostrano le definizioni effettuate nell'area di definizione della regola (vedere la sezione che segue).

- Modalità *Normal* (Normale)

  Tutte le regole vengono applicate successivamente. La prima regola applicabile al campione ne definisce il colore. Occorre quindi partire con la regola più specifica. Se questa non è applicabile, potrebbe essere applicabile una regola meno specifica. Se nessuna delle regole definite è applicabile, la regola predefinita finale definisce il codice colore.

- Passando alla modalità *Target* (Obiettivo) provoca l'inversione dell'attuale sequenza di regole.

  Tutte le regole vengono applicate successivamente. Se la regola successiva è applicabile, il codice colore cambia nel codice colore definito dalla regola, altrimenti viene mantenuto il colore precedente. Pertanto, l'ultima regola valida definisce il colore del campione. Questa modalità viene definita modalità obiettivo perchè le ultime regole rifiniscono il risultato del codice colore. Il primo codice colore è il più generico mentre l'ultimo è il più specifico.

Area di definizione della regola

- *Assisted/Advanced (Assistita/Avanzata)*

  Passa dalla modalità Assistita alla modalità Avanzata e viceversa.

- *Label Expression (Espressione dell'etichetta)*

  Consente di comporre una descrizione della regola utilizzando funzioni, variabili e stringhe. Se la regola selezionata è applicabile, l'etichetta del risultato definita sarà visualizzata nella Scheda secondaria *Results* (Risultati) (Scheda *Gel* o *Electropherogram*) e nella scheda riassuntiva del chip (colonna *Result Label* (Etichetta risultato)).

- *IF Expression (Espressione Se)*

  Consente di comporre un'espressione in base a funzioni, variabili ed operatori logici.

- *Comment (Commento)*

  Consente d'inserire un commento relativo alla regola.

- *Color (Colore)*

  Consente di selezionare un codice colore da utilizzare per evidenziare i campioni che soddisfano la regola.

  Selezionando *Gradient* (Gradiente), è possibile scegliere due colori per specificare un gradiente da sostituire al colore a tinta unita.

Riquadro della Guida in linea

Fornisce una guida dettagliata sulla funzione o variabile che si sta utilizzando. Oltre alla *sintassi* completa, la guida fornisce una *descrizione* e nella maggior parte dei casi, anche uno o più *esempi*.

If Expressions (Espressioni Se)

Le espressioni possono essere costituite da funzioni che rendono più semplice l'utilizzo delle variabili e che possono essere combinate tramite operatori.

Functions (Funzioni)

Ogni funzione ha un tipo di ritorno e può avere nessuno, uno o più parametri. La sintassi generale è: returnType function([type parameter], `[...]`). I parametri opzionali vengono presentati entro [parentesi quadre].

Vengono utilizzati i seguenti tipi:

Tipo di ritorno	Descrizione
`int`	Numero intero, per esempio 12
`float`	Numero a virgola mobile, per esempio 3,14159 o -1,2e-10
`string`	Stringa di caratteri; le costanti devono essere indicate tra virgolette, per esempio "Agilent"
`enum`	Enumerazione, vedere la sezione `int PeakFound(float Size, enum Windowtype, float WindowSize)`

Sono disponibili le seguenti funzioni:

Funzione	Descrizione
`PeakFound`	Utilizzata per verificare se frammenti di determinate dimensioni sono presenti oppure no. Ritorna l'ID del picco, se il picco del frammento viene trovato, altrimenti ritorna 0.
`PeakFoundAuto`	Utilizzata per verificare se un frammento di determinate dimensioni è presente oppure no. Ritorna l'ID del picco, se il picco del frammento viene trovato, altrimenti ritorna 0. Questa funzione ricerca un picco la cui dimensione del frammento è compresa tra dimensione +10% e dimensione -10%.
`PeakConcentration`	Ritorna l'ID del picco, se il picco del frammento viene trovato, altrimenti ritorna 0.
`NumberOfPeaks`	Ritorna il numero di picchi rilevato in un canale.
`TotalArea`	Ritorna la somma delle aree di tutti i picchi rilevati in un campione.
`TotalConcentration`	Ritorna la somma delle concentrazioni di tutti i picchi rilevati in un campione.
`PeakAttribute`	Ritorna l'attributo di un dato picco.
`PeakMax`	Ritorna il numero del picco con il valore più alto in una data colonna
`PeakMin`	Ritorna il numero del picco con il valore più basso in una data colonna

Funzione	Descrizione
`SubStr`	Ritorna una sottostringa di una stringa.
`Pattern`	Ritorna vero se viene trovato il motivo specificato in un picco di un campione.
`rRNAContamination`	Ritorna la contaminazione RNA di un campione.
`rRNARatio`	Ritorna il rapporto RNA di un campione.
`SignalAttribute`	Ritorna l'attributo di un dato segnale.

NOTA

Vedere il riferimento della funzione nel *Riquadro della Guida in linea* per dettagli sulla sintassi, utilizzo ed esempi.

Variables (Variabili) (Solo modalità avanzata)

Variabile	Descrizione
`Well`	Questa variabile della stringa rappresenta le coordinate del pozzetto. Dato che può essere considerata una stringa, può essere utilizzata in qualsiasi espressione in cui ci si attende una stringa.
`SampleName`	Questa variabile della stringa rappresenta il nome del campione. Dato che può essere considerata una stringa, può essere utilizzata in qualsiasi espressione in cui ci si attende una stringa.
`SampleCategory`	Questa variabile della stringa rappresenta la categoria del campione. Dato che può essere considerata una stringa, può essere utilizzata in qualsiasi espressione in cui ci si attende una stringa.

NOTA

Vedere il riferimento della variabile nel *Riquadro della Guida in linea* per dettagli sulla sintassi, utilizzo ed esempi.

Operators (Operatori) (solo modalità avanzata)

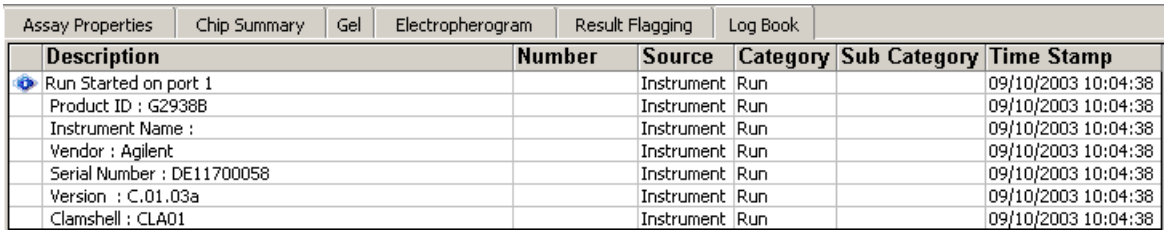
Sono disponibili operatori per il confronto (=, <, <=, >, >=, <>), per operazioni aritmetiche (+, -, *, /), e per operazioni logiche (AND, OR, AND NOT, OR NOT).

Operatore	Significato
=	Uguale
<	Inferiore a
<=	Inferiore o uguale a
>	Maggiore di
>=	Maggiore o uguale a
<>	Non uguale
+	Più, concatenazione di stringhe
-	Meno
*	Moltiplicato per
/	Diviso per
AND	Logico e
OR	Logico o
AND NOT	Logico e non
OR NOT	Logico o non

Scheda Log Book (Registro)

Scopo

La scheda *Log Book* (Registro) mostra eventi dell'analisi del chip sulla tabella di registro dell'analisi. Per esempio, è possibile vedere quando e da chi è stata effettuata una data analisi.



Description	Number	Source	Category	Sub Category	Time Stamp
Run Started on port 1		Instrument	Run		09/10/2003 10:04:38
Product ID : G2938B		Instrument	Run		09/10/2003 10:04:38
Instrument Name :		Instrument	Run		09/10/2003 10:04:38
Vendor : Agilent		Instrument	Run		09/10/2003 10:04:38
Serial Number : DE11700058		Instrument	Run		09/10/2003 10:04:38
Version : C.01.03a		Instrument	Run		09/10/2003 10:04:38
Clamshell : CLA01		Instrument	Run		09/10/2003 10:04:38

Anche errori e problemi dell'hardware o del software vengono riportati dal registro di analisi.

Accesso

La scheda *Log Book* (Registro) è disponibile se un file di dati del chip (.xad) è stato selezionato nel contesto *Data and Assay* (Dati ed analisi).

Run Log Table (Tabella del registro di analisi)

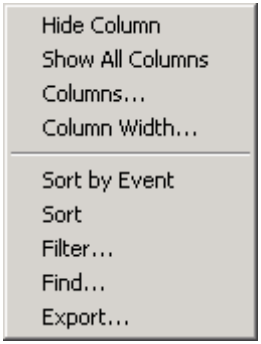
La tabella del registro d'analisi è composta dalle seguenti colonne:

Description (Descrizione)	Messaggio di testo che descrive la voce del registro d'analisi.
Number (Numero)	Numero dell'errore.
Source (Origine)	Origine che ha lanciato la voce del registro d'analisi: "Lettore", "Strumento" o "Interfaccia utente".
Category (Categoria)	"Misurazione", "Sistema", "Riservata", "Campione" o "Analisi".
User (Utente)	L'utente che era registrato sull'*Host* quando è stata creata la voce del registro d'analisi.
Host	Nome del computer da cui è stata avviata l'analisi del chip.
Time Stamp (Data e ora)	Data e ora in cui è stato creato il registro d'analisi.

La tabella del registro d'analisi viene salvata come parte del file di dati del chip (.xad) e non può essere eliminata.

Menu del contesto

Facendo clic con il pulsante destro sulla tabella del registro d'analisi si provoca l'apertura di un menu del contesto:



Hide Column (Nascondi colonna)	Nasconde la colonna selezionata.
Show All Columns (Mostra tutte le colonne)	Mostra tutte le colonne.
Columns... (Colonne)	Apre una finestra di dialogo che consente di nascondere, mostrare e riordinare le colonne.
Column Width... (Larghezza colonna)	Apre una finestra di dialogo che consente di ridimensionare la colonna selezionata.

Sort by Event (Ordina per evento)	Ordina la tabella in base alla colonna *Category* (Categoria) (ascendente).
Sort (Ordina)	Ordina la tabella in base alla colonna selezionata.
Filter... (Filtro)	Apre la finestra di dialogo *Filter Events* (Filtra eventi) che consente di nascondere le voci della tabella che soddisfano i criteri specificati. Un filtro, per esempio, può nascondere tutti gli eventi non critici.
Find... (Trova)	Apre una casella di dialogo che consente di ricercare una stringa nella tabella.
Export... (Esporta)	Apre una finestra di dialogo che consente di esportare la tabella del registro d'analisi (o di parte di essa) come file .html.

Tabelle (Contesto Validation (Validazione))

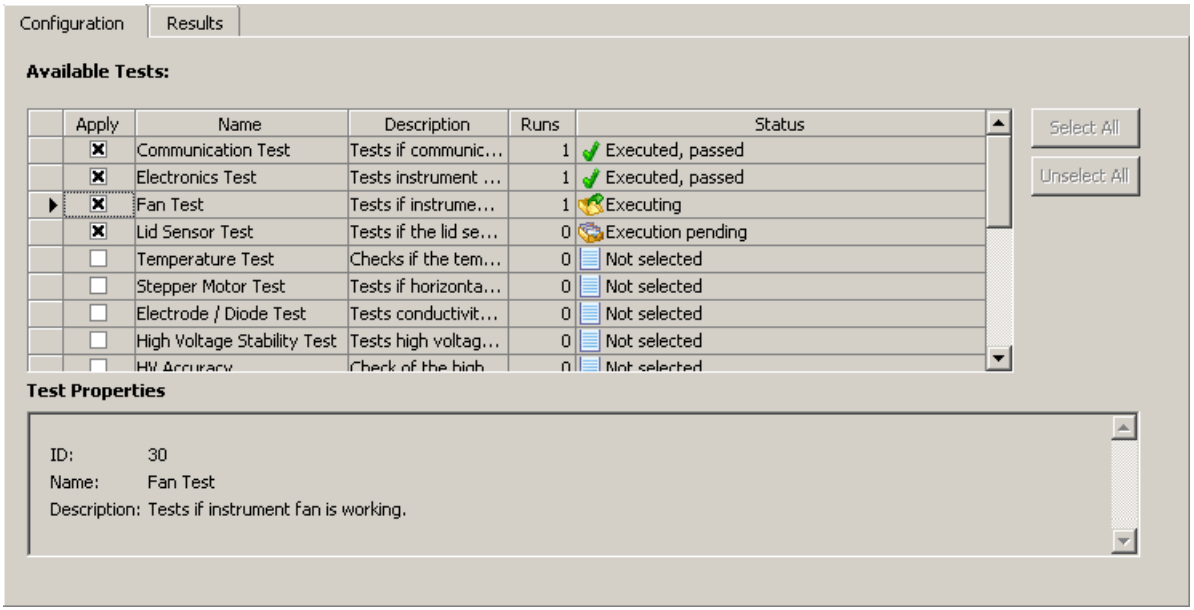
Nel contesto *Instrument* (Strumento), sono disponibili le seguenti cartelle:

- *Scheda Configuration (Configurazione)*
- *Scheda Results (Risultati)*

Scheda Configuration (Configurazione)

Scopo

La scheda *Configuration* (Configurazione) consente di selezionare i test di qualificazione da eseguire in una prova di validazione. Durante una prova di validazione, mostra lo stato ed i risultati dei test.



Test disponibili

Colonne

Apply (Applica)	Consente di selezionare il test di qualificazione da eseguire.
Name (Nome)	Nome del test di qualificazione.
Descrizione	Breve descrizione dei test di qualificazione.
Runs (N° di esecuzioni)	Mostra quante volte il test di qualificazione è stato eseguito in questa validazione.
Status (Stato)	Per ogni test di qualificazione viene mostrato lo stato corrente: • *Not Selected* (Non selezionato) • *Selected* (Selezionato) • *Executing* (In esecuzione) • *Execution pending* (In attesa di esecuzione) • *Executed, passed* (Eseguito, passato) • *Executed, failed* (Eseguito, fallito)

Pulsanti

Select All (Seleziona tutti)	Seleziona tutti i test di qualificazione per l'esecuzione.
Unselect All (Deseleziona tutti)	Deseleziona tutti i test di qualificazione.

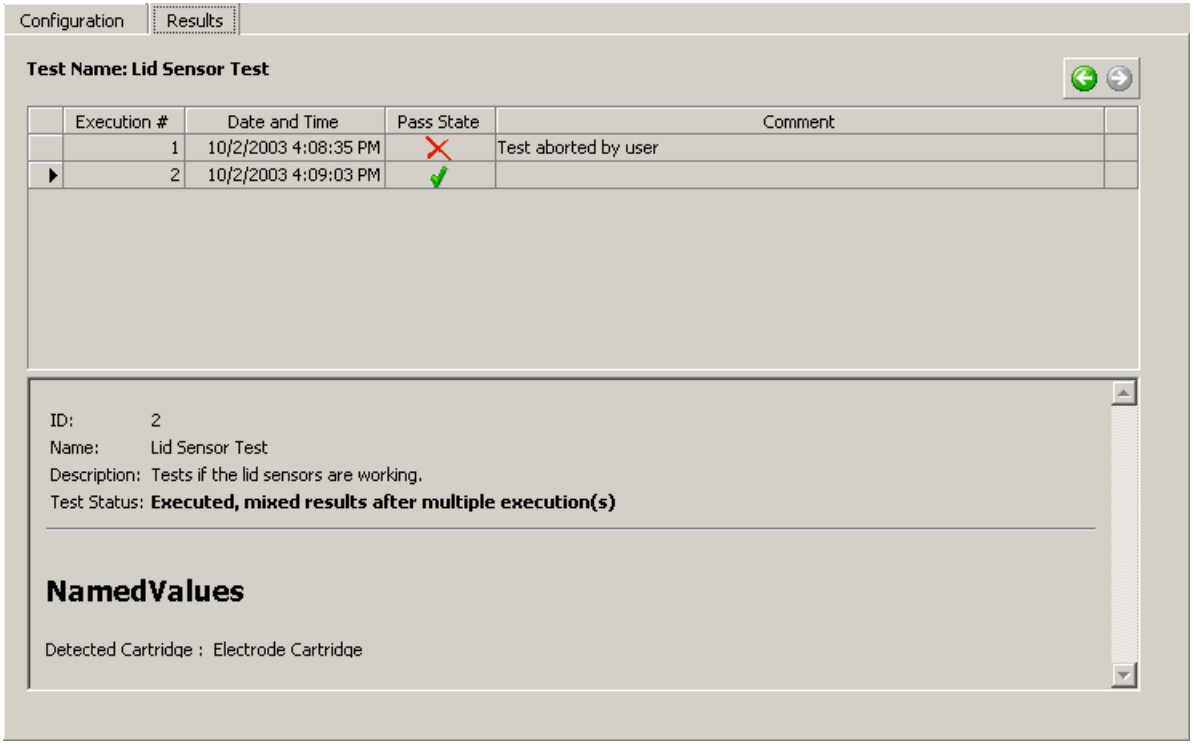
Test Properties (Proprietà del test)

Mostra *ID*, *Name* (Nome) ed una *Description* (Descrizione) del test di qualificazione che è stato selezionato sulla scheda *Available Tests* (Test disponibili).

Scheda Results (Risultati)

Scopo

La tabella *Results* (Risultati) consente di vedere risultati dettagliati dei test di qualificazione.



I risultati vengono mostrati per un test alla volta, ma è possibile sfogliare i vari test.

Test Name (Nome del test): ...

Colonne

Execution # (N° di esecuzione)	Numero di esecuzione (nel caso di esecuzioni multiple del test).
Date and Time (Data ed ora)	Data ed ora in cui il test di qualificazione è stato eseguito.
Pass State (Stato di qualificazione)	 Il test di qualificazione è stato passato.
	 Il test di qualificazione è fallito o è stato abortito.
Comment (Commento)	Informazioni aggiuntive sull'esecuzione del test.

Pulsanti

	Salta ai risultati del test di qualificazione precedente.
	Salta ai risultati del test di qualificazione successivo.

Test Properties (Proprietà del test)

Mostra *ID*, *Name* (Nome), *Description* (Descrizione), *Test Status* (Stato del test) ed informazioni aggiuntive sul test di qualificazione selezionato.

Tabelle (Contesto Comparison (Confronto))

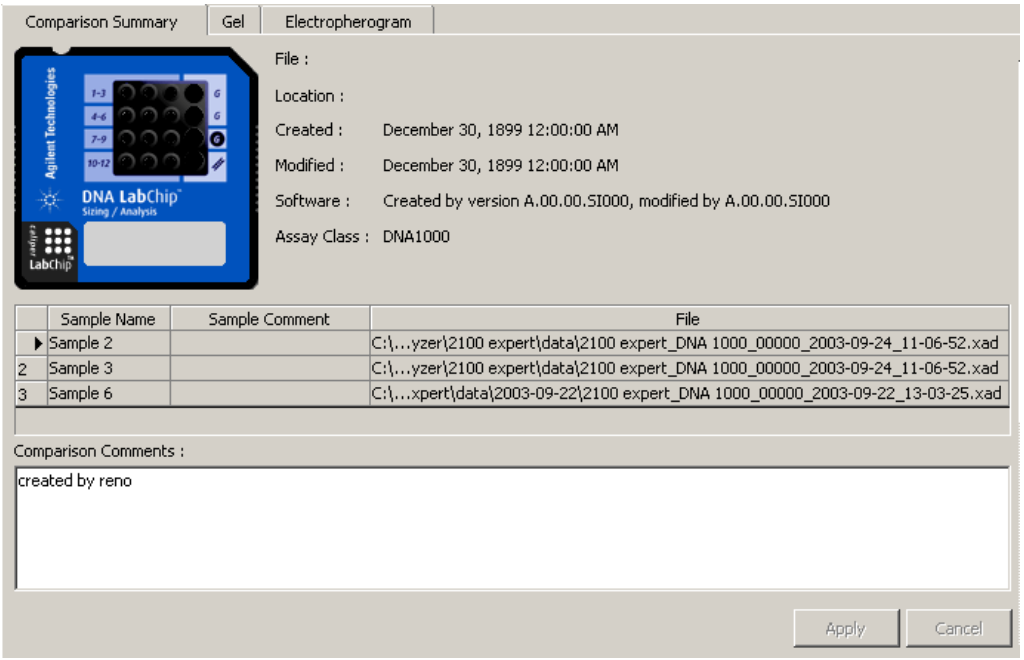
Nel contesto *Comparison* (Confronto), sono disponibili le seguenti cartelle:

- *Scheda Comparison Summary (Riepilogo confronto)*
- *Scheda Gel* (vedere la sezione"Scheda Gel" a pagina 509)
- *Scheda Electropherogram (Single/Grid View) (Elettroferogramma (Visualizzazione singola/griglia))* (vedere la sezione *"Scheda Electropherogram (Single/Grid View) (Elettroferogramma (Visualizzazione singola/griglia))" a pagina 526*)

Scheda Comparison Summary (Riepilogo confronto)

Scopo

La scheda *Comparison Summary* (Riepilogo confronto) riporta informazioni relative al file di confronto selezionato e consente d'inserire un commento che riguarda il confronto.



Accesso

La scheda *Comparison Summary* (Riepilogo confronto) è disponibile nel contesto *Comparison* se viene selezionato un file di confronto (.xac), o uno dei suoi campioni.

Elementi

Chip icon (Icona del chip)	L'icona del chip indica il tipo di analisi: DNA, RNA, o Proteina.
File Name (Nome del file)	Nome del file di confronto (.xac).
Location (Posizione)	Directory in cui è memorizzato il file di confronto.
Created (Creato)	Data di creazione del file di confronto.
Modified (Modificato)	Data dell'ultima modifica del file di confronto.
Software	Versioni di 2100 expert utilizzate per creare e modificare il file di confronto.
Assay Class (Classe dell'analisi)	DNA1000, per esempio.
Sample Name (Nome del campione)	Nome del campione come indicato nel file di dati del chip (.xad) o nel file di analisi (.xsy).
Sample Comment (Commento del campione)	Commento del campione come indicato nel file di dati del chip (.xad) o nel file di analisi (.xsy).
File	Nome e directory del file di dati del chip (.xad) da cui proviene il campione.

Comparison Comments (Commenti sul confronto)	Inserire qui commenti riguardanti il confronto.
Apply (Applica)	Applica (ma non salva) le modifiche al campo *Comparison Comments*.
Cancel (Annulla)	Annulla le modifiche al campo *Comparison Comments*, tranne quelle già applicate.

Nel contesto Comparison (Confronto), sono disponibili anche le seguenti cartelle:

- *Scheda Gel* (vedere la sezione"Scheda Gel" a pagina 509)
- *Scheda Electropherogram (Single/Grid View) (Elettroferogramma (Visualizzazione singola/griglia))* (vedere la sezione *"Scheda Electropherogram (Single/Grid View) (Elettroferogramma (Visualizzazione singola/griglia))" a pagina 526*)

Vedere la sezione "Confronto tra campioni provenienti da differenti analisi del chip" a pagina 169 per informazioni sul confronto dei campioni di diverse analisi.

Status Bar (Barra di stato)



La barra di stato posta nella parte bassa della finestra dell'applicazione di 2100 expert, mostra:

- Messaggi di sistema
- Barra di avanzamento

  Una barra di avanzamento viene visualizzata, per esempio, durante l'apertura o il salvataggio di un file, oppure durante l'analisi di un chip.
- Data e ora
- Stato delle opzioni *Auto Export* (Esportazione automatica), *Auto Print* (Stampa automatica) ed *Auto Run* (Esecuzione automatica).

  Le opzioni disabilitate sono visualizzate in grigio.

Finestre di dialogo

Il software 2100 expert fornisce le seguenti finestre di dialogo:

Finestra di dialogo	Scopo
Generale	
"About (Informazioni su) 2100 Expert" a pagina 583	Per avere informazioni sull'hardware e software del bioanalizzatore.
"2100 Expert – Close (Chiudi)" a pagina 585	Per salvare le modifiche non salvate al momento di uscire dall'applicazione 2100 expert o passando ad un altro contesto.
"2100 expert – End of Run (Fine dell'analisi)" a pagina 597	Mostra lo stato dell'analisi del chip terminata (o abortita).
"Auto Export (Esportazione automatica)" a pagina 611	Per specificare opzioni per l'esportazione automatica dei dati.
"Auto Print (Stampa automatica)" a pagina 633	Per specificare opzioni per la stampa automatica.
"Configure Columns... (Configura colonne)" a pagina 636	Per mostrare o nascondere le colonne delle tabelle dei risultati.
"Open (Apri)" a pagina 601	Per aprire file di dati del chip e file di analisi.
"Options – Data Files (Opzioni – File di dati)" a pagina 587	Per configurare le proprietà di salvataggio dei file di dati.

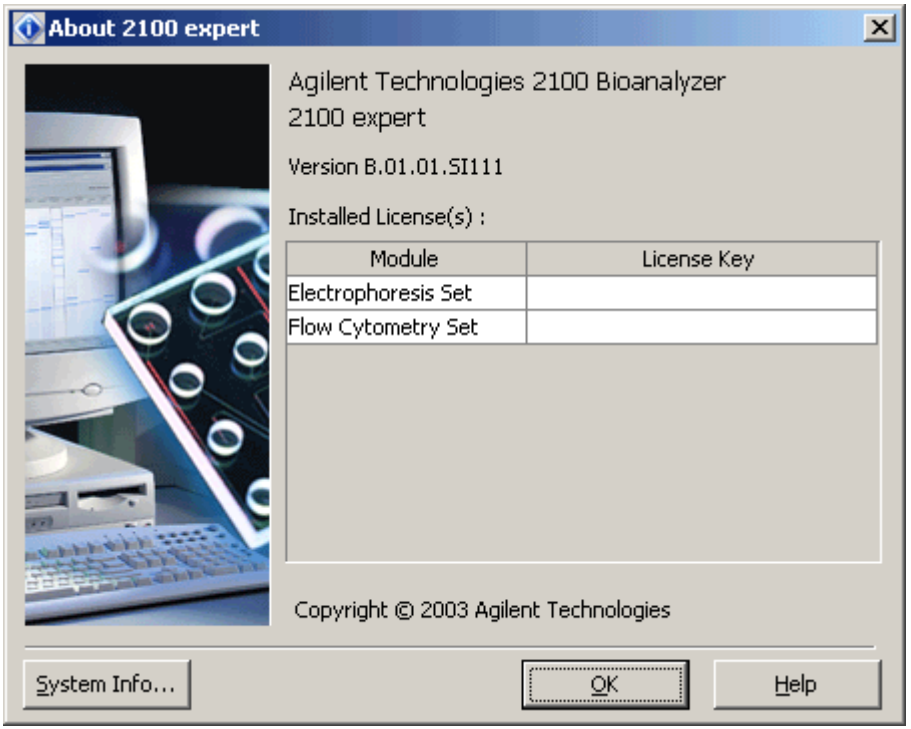
Finestra di dialogo	Scopo
"Options – Chip Alert (Opzioni – Avviso chip)" a pagina 590	Per configurare l'avviso del chip al termine della misurazione.
"Options – Graph Settings (Opzioni – Impostazioni grafiche)" a pagina 592	Per definire i colori del grafico per elettroferogrammi ed istogrammi sovrapposti.
"Options – Advanced (Opzioni – Avanzate)" a pagina 594	Per abilitare la stampa automatica, l'esportazione automatica e l'esecuzione automatica dell'analisi del chip.
"Page Setup... (Impostazione pagina)" a pagina 648	Per selezionare le dimensioni ed il formato di stampa.
"Print (Stampa) (Validazione)" a pagina 626	Per impostare le opzioni per i report di validazione ed avviare la stampa.
"Report Preview (Anteprima report)" a pagina 650	Per visualizzare l'anteprima di una pagina prima della stampa.
"Save Selected Samples (Salva campioni selezionati)" a pagina 653	Per selezionare un sottoinsieme di campioni per il salvataggio.
"System Log Viewer (Visualizzatore del registro di sistema)" a pagina 656	Per visualizzare eventi registrati per tutto il sistema.
Analisi elettroforetiche	
"Export Options (Opzioni di esportazione) (Elettroforesi)" a pagina 607	Per esportare dati del chip e di analisi (elettroforesi) in formati differenti.
"Print (Stampa) (Elettroforesi)" a pagina 622	Per impostare le opzioni di stampa (confronto) ed avviare la stampa.

Finestra di dialogo	Scopo
"Print (Stampa) (Confronto)" a pagina 629	Per impostare le opzioni di stampa (confronto) ed avviare la stampa.
Analisi citometriche a flusso	
"Export Options (Opzioni di esportazione) (Citometria a flusso)" a pagina 603	Per esportare dati del chip e di analisi (citometria a flusso) in formati differenti.
"Print (Stampa) (Citometria a flusso)" a pagina 618	Per impostare le opzioni di stampa (citometria a flusso) ed avviare la stampa.
"Configure Marker (Configura marker)" a pagina 638	Per configurare il marker in un istogramma.
"Copy Marker (Copia marker)" a pagina 647	Per confermare o saltare l'utilizzo del marker attualmente selezionato come marker di riferimento per tutti gli istogrammi.
"Insert Existing Markers (Inserisci marker esistenti)" a pagina 642	Per inserire marker esistenti in un istogramma.
"Configure Region (Configura area)" a pagina 640	Per configurare l'area in un dot-plot.
"Copy Region (Copia area)" a pagina 646	Per confermare o saltare l'utilizzo dell'area attualmente selezionata come area di riferimento per tutti i dot-plot.
"Insert Existing Region (Inserisci area esistente)" a pagina 644	Per inserire aree esistenti in un dot-plot.

About (Informazioni su) 2100 Expert

Scopo

Questa finestra di dialogo viene utilizzata per avere informazioni sull'hardware e software del bioanalizzatore installato.



Accesso

Questa finestra di dialogo può essere aperta selezionando *Help* > *About* (Guida in linea > Informazioni su...).

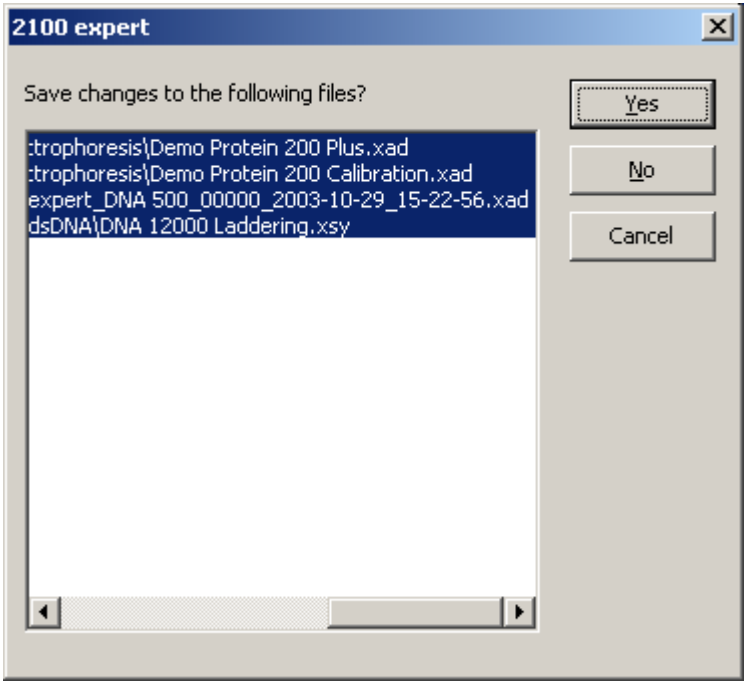
Elementi

Module/ License Key (Modulo/chiave di licenza)	Elenca i pacchetti software installati e le chiavi di registrazione associate che sono state utilizzate per attivare il pacchetto.
System Info (Informazioni sul sistema)	Avvia l'applicazione *System Info* del sistema operativo Windows®. Il pulsante viene visualizzato solo se è installata l'applicazione *System Info* di Windows® . Vedere la documentazione di Windows®.
OK	Chiude la finestra di dialogo .

2100 Expert – Close (Chiudi)

Scopo

Questa finestra di dialogo consente di decidere se salvare le modifiche non ancora salvate.



Accesso

Questa finestra di dialogo viene visualizzata se si tenta di uscire dall'applicazione 2100 expert (o se si tenta di passare da un contesto all'altro) ma sono presenti dati non salvati.

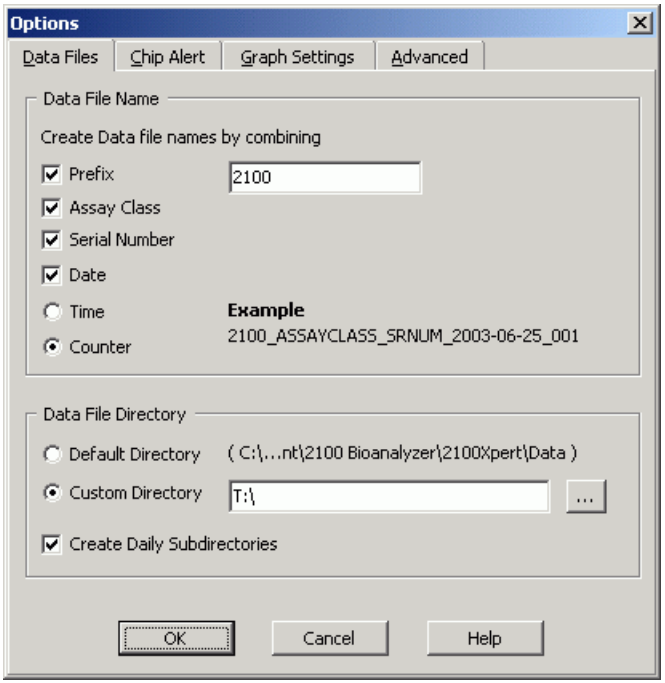
Elementi

Save changes to the following files? (Salva le modifiche ai seguenti file?)	Se si desidera salvare le modifiche a dei file specifici, è possibile selezionare o deselezionare singoli file dell'elenco cliccando su di essi. Per predefinizione tutti i file con modifiche non salvate risultano evidenziati.
Yes (Si)	Salva le modifiche ai file selezionati e chiude 2100 expert (o passa ad un altro contesto).
No	Chiude l'applicazione 2100 expert (o passa ad un altro contesto) senza salvare nulla.
Cancel (Annulla)	Chiude la finestra di dialogo e ritorna alla sessione di 2100 expert senza salvare alcun dato.

Options – Data Files (Opzioni – File di dati)

Scopo

Sulla scheda *Data Files* (File di dati) della finestra di dialogo *Options* (Opzioni), è possibile specificare i nomi da utilizzare per il file di memorizzazione dei dati del chip. I file di dati del chip vengono denominati automaticamente quando vengono generati.



Accesso

Aprire questa finestra di dialogo selezionando *Tools* > *Options...* (Strumenti > Opzioni) e facendo clic sulla scheda *Data Files (File di dati).*

Elementi

Per specificare i *Data File Names* (Nomi dei file di dati), è possibile effettuare le seguenti impostazioni:

Prefix (Prefisso)	Il prefisso qui inserito costituirà la prima parte del nome del file. Il prefisso predefinito per i file è “2100 expert”.
Serial Number (Numero di serie)	Inserire il numero di serie del proprio strumento bioanalizzatore Agilent 2100 nel nome del file. Questo è utile in particolare se si lavora con un sistema multistrumento.
Assay Class (Classe dell'analisi)	Inserisce il tipo di analisi nel nome del file. Per esempio, "DNA1000", "Protein50", "Apoptosis", o "Generic".
Data	Inserisce la data in cui è stata effettuata l'analisi del chip
Time/Counter (Data e ora/ contatore)	*Time* inserisce data e ora nel file di analisi. Se non si desidera utilizzare data e ora, si può selezionare *Counter*. *Counter* inserisce numeri a 3 cifre incrementati ai nomi di file che iniziano con "001", "002" e così via.
Example (Esempio)	Anteprima del nome del file .xad in base alle impostazioni delle impostazioni del nome del file dati scelto scelto.

Per esempio, includendo un prefisso come "2100 expert", così come la data e l'ora, i file di dati saranno creati con nomi del tipo "2100 expert_2003-07-01_14-09-12.xad".

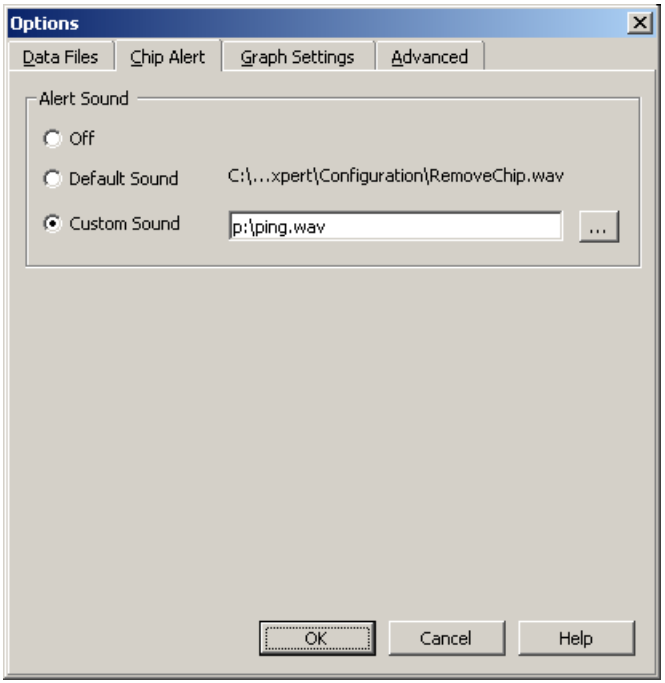
È possibile specificare la directory dove si desidera memorizzare il file di dati del chip (*Data File Directory*):

Default (Predefinito)	L'indirizzo predefinito è la subdirectory "..\Data" della directory d'installazione.
Custom (Personalizzata)	Una directory di propria scelta Utilizzare il pulsante *Browse* (Sfoglia) alla sinistra del campo di testo per aprire la finestra di dialogo *Directory search* (Ricerca directory) che consente di selezionare la directory in cui salvare i file di dati.
Create Daily Subdirectories (Crea sottodirectory giornaliere)	Ogni giorno in cui vengono generati dati di analisi del chip, viene creata una sottodirectory con il formato di denominazione "AAAA-MM-GG" nella directory selezionata per la memorizzazione dei dati, per esempio, 2003-08-22.

Options – Chip Alert (Opzioni – Avviso chip)

Scopo

Sulla scheda *Chip Alert* (Avviso chip) della finestra di dialogo *Options* (Opzioni), è possibile specificare che il bioanalizzatore emetta un segnale sonoro quando l'analisi è stata completata ed il chip deve essere rimosso dal bioanalizzatore Agilent 2100.



Accesso

Aprire questa finestra di dialogo selezionando *Tools* > *Options...* (Strumenti > Opzioni) e facendo clic sulla scheda *Chip Alert (Avviso chip).*

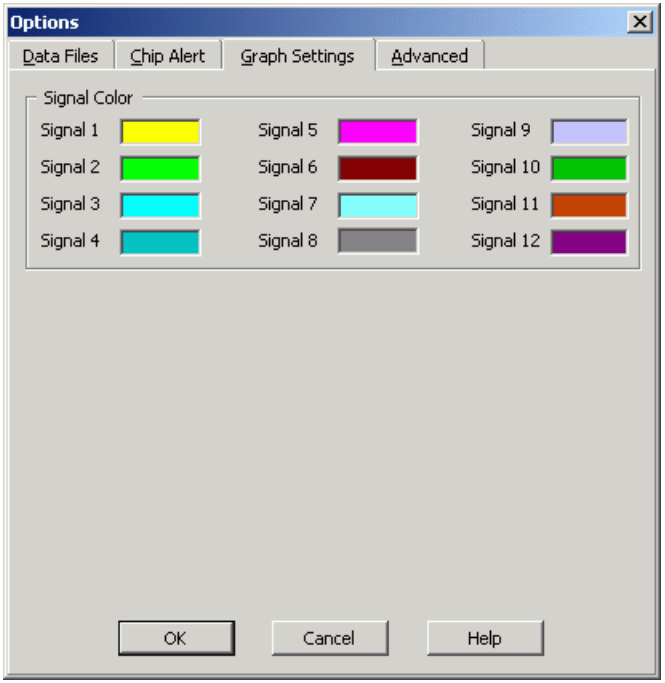
Elementi

Off (Spento)	Disattiva l'avviso sonoro
Default Sound (Suono predefinito)	Suono standard per l'avviso sonoro del chip.
Custom Sound (Suono personalizzato)	Consente l'utilizzo di un suono personalizzato per l'avviso sonoro. È possibile utilizzare qualsiasi file .wav. Fare clic sul pulsante ... alla destra del campo di testo per aprire una finestra di dialogo per la selezione del file. Il nome del file sarà visualizzato nel campo del testo.

Options – Graph Settings (Opzioni – Impostazioni grafiche)

Scopo

È possibile confrontare i campioni sovrapponendo i loro elettroferogrammi/istogrammi. Sulla scheda *Graph Settings* (Impostazioni grafiche) della finestra di dialogo *Options* (Opzioni) è possibile impostare i colori (elettroferogramma/istogramma) del segnale nei grafici sovrapposti.



Accesso

Aprire questa finestra di dialogo selezionando *Tools* > *Options...* (Strumenti > Opzioni) e facendo clic sulla scheda *Graph Settings (Impostazioni grafiche).*

Elementi

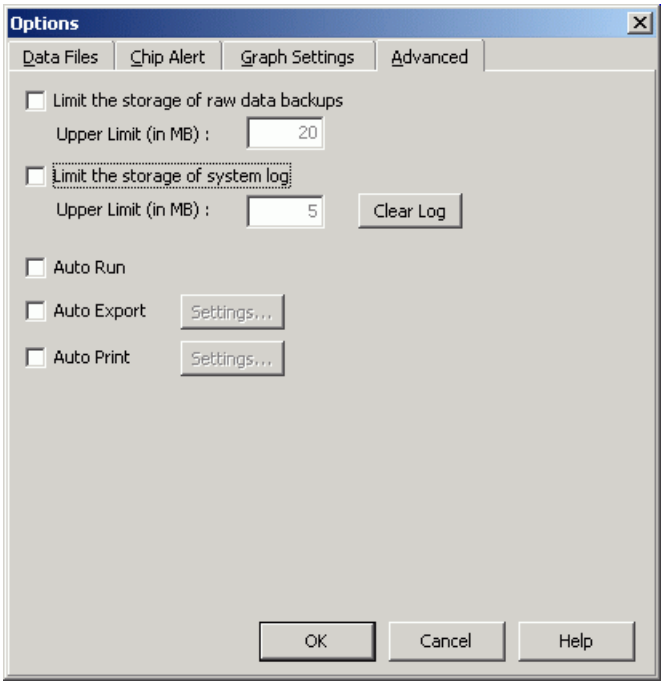
Signal Color (Colore del segnale)	La casella colorata identificata da *Signal n* (dove n sta per il numero del campione) mostra il colore della curva nel grafico sovrapposto. Fare clic su questa casella per aprire la finestra di dialogo *Color* (Colore). Selezionare un colore per il segnale ed assegnarlo facendo clic su *OK*.

Options – Advanced (Opzioni – Avanzate)

Scopo

Sulla scheda *Advanced* (Avanzate) della finestra di dialogo *Options* (Opzioni) è possibile:

- Impostare i limiti di spazio sul disco per la memorizzazione dei dati.
- Impostare l'esecuzione automatica dell'analisi del chip, l'esportazione automatica e la stampa automatica.



Accesso

Aprire questa finestra di dialogo selezionando *Tools* > *Options...* (Strumenti > Opzioni) e facendo clic sulla scheda *Advanced (Avanzate).*

Elementi

Limit the storage of raw data backups (Limitare la memorizzazione del backup dei dati grezzi)	Selezionare questa opzione per limitare la quantità di spazio sul disco riservata alla memorizzazione dei dati grezzi. I file di backup dei dati grezzi (file pacchetto, .pck) vengono memorizzati nella sottodirectory "..\packets" L'*Upper Limit (in MB)* (Limite superiore in MB) predefinito è 20, che corrisponde approssimativamente a 20 file di dati del chip.
Limit the storage of system log (Limita la memorizzazione del registro del sistema)	Selezionare questa opzione per limitare la quantità di spazio sul disco riservata al file di registro "SystemLogBook.log" (posizionata nella subdirectory "..\log"). Quando l'*Upper Limit (in MB)* viene raggiunto, viene visualizzata una casella con un messaggio che richiede se il file di registro del sistema deve essere cancellato.
Clear Log (Cancella file di registro)	Fare clic su questo pulsante per eliminare il file di registro del sistema "SystemLogBook.log" (situato nella sottodirectory "..\log").
Auto Run (Esecuzione automatica)	Attiva la modalità *Auto Run*. Appena il coperchio del bioanalizzatore Agilent 2100 è chiuso e viene rilevata la presenza di un chip adatto, se questa opzione è selezionata, l'analisi si avvia automaticamente.

Auto Export (Esportazione automatica)	Attiva la modalità di esportazione automatica. Ogni nuova analisi del chip sarà esportata automaticamente. Facendo clic sul pulsante *Settings...* (Impostazioni) si fa apparire la finestra di dialogo che consente di selezionare il tipo e la posizione finale dei dati da esportare. *Auto Export (Esportazione automatica)* Per ulteriori informazioni sull'esportazione dei dati, vedere la sezione "Esportazione dei dati" a pagina 311.
Auto Print (Stampa automatica)	Attiva la modalità di stampa automatica. Ogni nuovo file di dati del chip generato sarà inviato automaticamente alla stampante. Facendo clic sul pulsante *Settings...* (Impostazioni) viene visualizzata la finestra di dialogo che consente di definire il tipo di stampa e di selezionare una stampante. *Auto Print (Stampa automatica)* Per ulteriori informazioni sulla stampa, vedere la sezione "Stampa dei report" a pagina 323.

NOTA

Le impostazioni *Auto Print* e *Auto Export* sono indipendenti dai comandi *Print...* (Stampa) ed *Export...* (Esporta) del menu *File* (vedere la sezione "Menu File" a pagina 381).

2100 expert – End of Run (Fine dell'analisi)

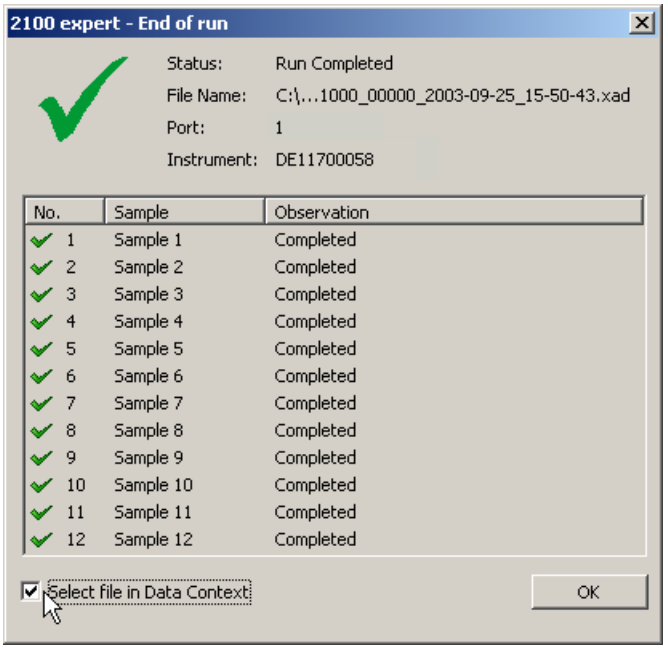
Scopo

Questa finestra di dialogo indica la conclusione dell'attuale analisi del chip ed eventuali errori ad essa associati.

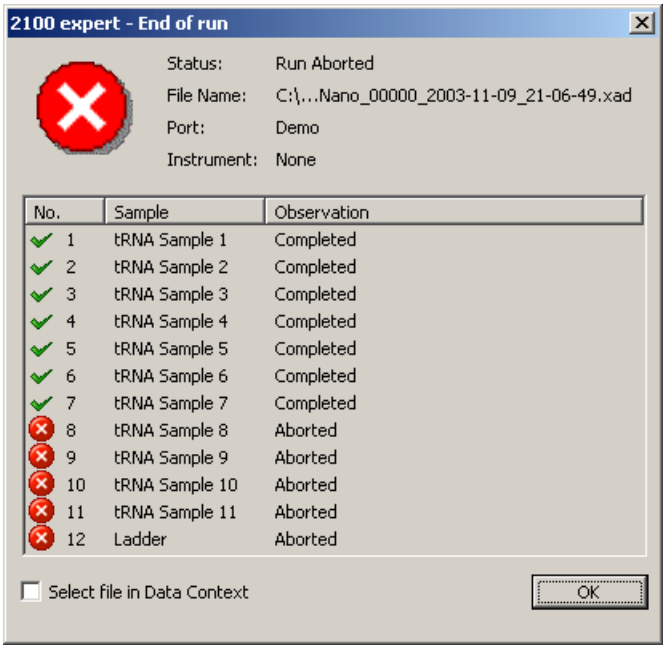
Accesso

La finestra di dialogo viene visualizzata (accompagnata da un suono di avviso, vedere la sezione “Options – Chip Alert (Opzioni – Avviso chip)” a pagina 590) al termine dell'analisi di un chip o se un'analisi è stata abortita.

Analisi del chip *completata*:



Analisi del chip *abortita*:


2100 expert - End of run
Status: Run Aborted
File Name: C:\...Nano_00000_2003-11-09_21-06-49.xad
Port: Demo
Instrument: None
No. Sample Observation
1 tRNA Sample 1 Completed
2 tRNA Sample 2 Completed
3 tRNA Sample 3 Completed
4 tRNA Sample 4 Completed
5 tRNA Sample 5 Completed
6 tRNA Sample 6 Completed
7 tRNA Sample 7 Completed
8 tRNA Sample 8 Aborted
9 tRNA Sample 9 Aborted
10 tRNA Sample 10 Aborted
11 tRNA Sample 11 Aborted
12 Ladder Aborted
Select file in Data Context
OK

Elementi

Status (Stato)	Mostra lo stato dell'analisi del chip *Run Aborted* (Analisi abortita) o *Run Completed* (Analisi completata).
File Name (Nome del file)	Nome del file di dati del chip (.xad) in cui vengono salvati i dati dell'analisi.
Port (Porta)	Numero della porta COM a cui è connesso lo *strumento*, oppure "Demo" se è stata eseguita un'analisi dimostrativa.

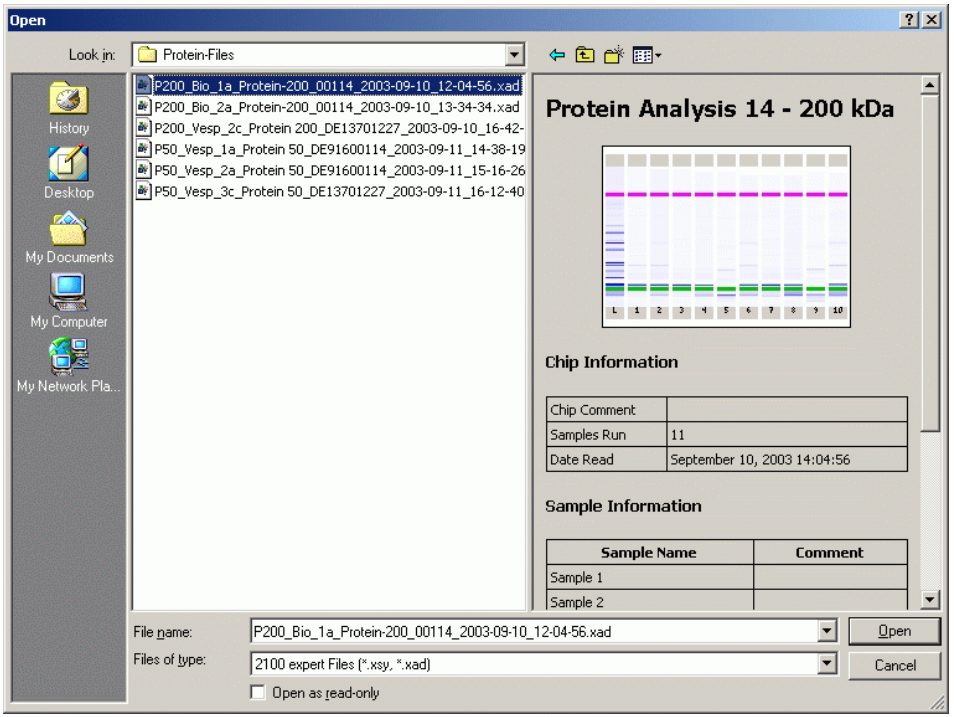
Instrument (Strumento)	Nome del bioanalizzatore utilizzato per l'analisi del chip.
No. (Numero)	Numero del campione. Un segno verde accanto al numero del campione indica una misurazione completata, mentre una croce bianca in campo rosso indica una misurazione abortita o incompleta.
Sample (Campione)	Nomi dei campioni.
Observation (Osservazione)	Mostra quanti eventi sono stati rilevati (per analisi citometriche a flusso), quanti picchi sono stati trovati (per analisi di DNA e Proteina), l'ammontare del rapporto RNA (per analisi di RNA Totale), la contaminazione rRNA (per analisi mRNA), e solo il tempo di lettura per le analisi degli acidi nucleici marcati con Cy5. Mostra anche messaggi specifici del campione (errori).
Select file in Data Context (Seleziona file nel contesto dati)	Quando si fa clic su *OK* con questa opzione selezionata, si viene rinviati al contesto *Data and Assay* (Dati ed analisi), dove vengono visualizzati i risultati dell'analisi del chip attuale.

Open (Apri)

Scopo

Questa finestra di dialogo viene utilizzata per aprire

- I file di dati del chip (.xad), i file di analisi (.xsy), o per importare marker e regioni da file come
- File di confronto (.xac) e
- File dei risultati di validazione (.xvd).



Accesso

Questa finestra di dialogo può essere aperta selezionando *File*> *Open* (File > Apri).

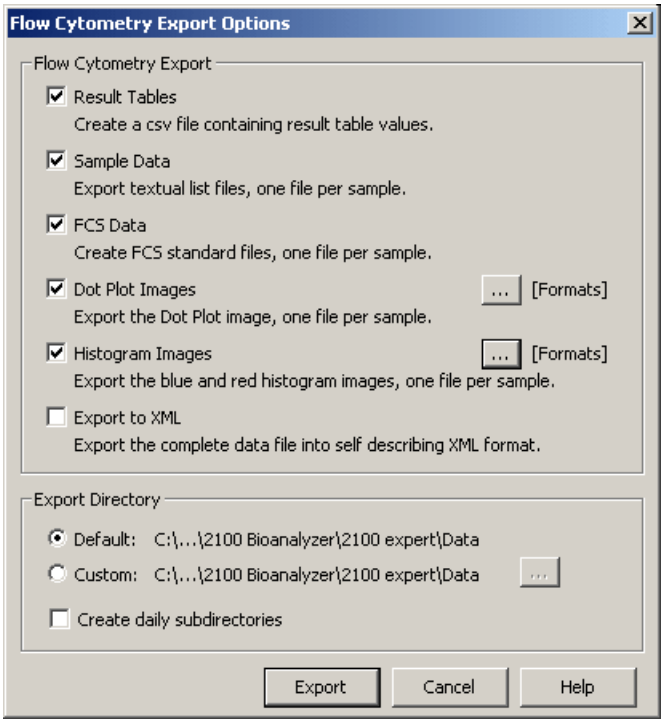
Elementi

Look in (Cerca)	Consente di selezionare un drive ed una directory.
File Name (Nome del file)	Visualizza il nome dello strumento selezionato.
File of type (Tipo di file)	Consente di selezionare il tipo di file.
Assay list (Elenco analisi)	Visualizza i file di dati del chip ed i file di analisi situati nella directory selezionata.
Information frame (Riquadro delle informazioni)	Visualizza informazioni relative al file selezionato. Per i file di dati del chip, per esempio, si vedrà un'anteprima dell'immagine gel-simile.
Open as read-only (Apri come sola lettura)	Se si apre un file con questa opzione selezionata, non si sarà in grado di salvare le modifiche al file.
Open (Apri)	Fare clic su questo pulsante per aprire il file selezionato.

Export Options (Opzioni di esportazione) (Citometria a flusso)

Scopo

Questa finestra di dialogo viene utilizzata per esportare i dati del chip citometrico a flusso in diversi formati.


Flow Cytometry Export Options
Flow Cytometry Export
Result Tables
Create a csv file containing result table values.
Sample Data
Export textual list files, one file per sample.
FCS Data
Create FCS standard files, one file per sample.
Dot Plot Images
[Formats]
Export the Dot Plot image, one file per sample.
Histogram Images
[Formats]
Export the blue and red histogram images, one file per sample.
Export to XML
Export the complete data file into self describing XML format.
Export Directory
Default: C:\...\2100 Bioanalyzer\2100 expert\Data
Custom: C:\...\2100 Bioanalyzer\2100 expert\Data
Create daily subdirectories
Export
Cancel
Help

Accesso

Questa finestra di dialogo può essere aperta selezionando *File* > *Export ...* (File > Esporta) con un file di dati del chip citometrico (.xad) selezionato.

Elementi

Categorie di *esportazione dei dati della citometria a flusso*

Result Tables (Tabelle dei risultati)	Crea un file .csv contenente le tabelle dei risultati. Tutti i campioni misurati vengono esportati in un file.
Sample Data (Dati del campione)	Esporta file elenco di testo (.csv), un file per campione. I dati dell'evento sono indirizzati ad utenti avanzati che desiderano analizzare in dettaglio i dati. Sono compresi la data e l'ora in cui l'evento è stato misurato ed anche i valori della fluorescenza blu e rossa.
FCS Data (Dati FCS)	Crea file FCS standard (.fcs), un file per campione. Questo è il formato standard per i dati di citometria a flusso e può essere processato utilizzando, per esempio, l'applicazione FCS Express. In FCS Express, i dati del bioanalizzatore, che coprono sei ordini di grandezza ($0.01 \ldots 10^4$), saranno visualizzati sull'asse x nel range da 1 ... 1024.
Dot Plot Images (Immagini dot-plot)	Esporta le immagini dot-plot di tutti i campioni, un'immagine per campione. Facendo clic sul pulsante ... si apre una finestra di dialogo che consente di selezionare i seguenti formati delle immagini: Windows Bitmap (.bmp), JPEG (.jpg), e Windows Meta File (.wmf). Sono possibili selezioni multiple.

Histogram Images (Immagini di istogrammi)	Esporta le immagini degli istogrammi di tutti i campioni, due immagini (istogramma rosso e blu) per campione. Facendo clic sul pulsante ... si apre una finestra di dialogo che consente di selezionare i seguenti formati delle immagini: Windows Bitmap (.bmp), JPEG (.jpg), e Windows Meta File (.wmf). Sono possibili selezioni multiple.
Export to XML (Esporta in XML)	Scrive il contenuto completo del file .xad in un file strutturato .xml.

Impostazioni della *directory di esportazione*

Default (Predefinito)	La directory di destinazione predefinita è "..\Data\" nella cartella d'installazione di 2100 expert.
Custom (Personalizzata)	Una directory di destinazione di propria scelta. Utilizzare il pulsante ... alla destra del campo di testo per aprire la finestra di dialogo *Browse for folder* (Sfoglia per la cartella).
Create Daily Subdirectories (Crea sottodirectory giornaliere)	Se selezionato, nella directory di destinazione viene creata una sottodirectory con il formato di denominazione "AAAA-MM-GG" ed i dati d'esportazione vengono scritti in questa directory.

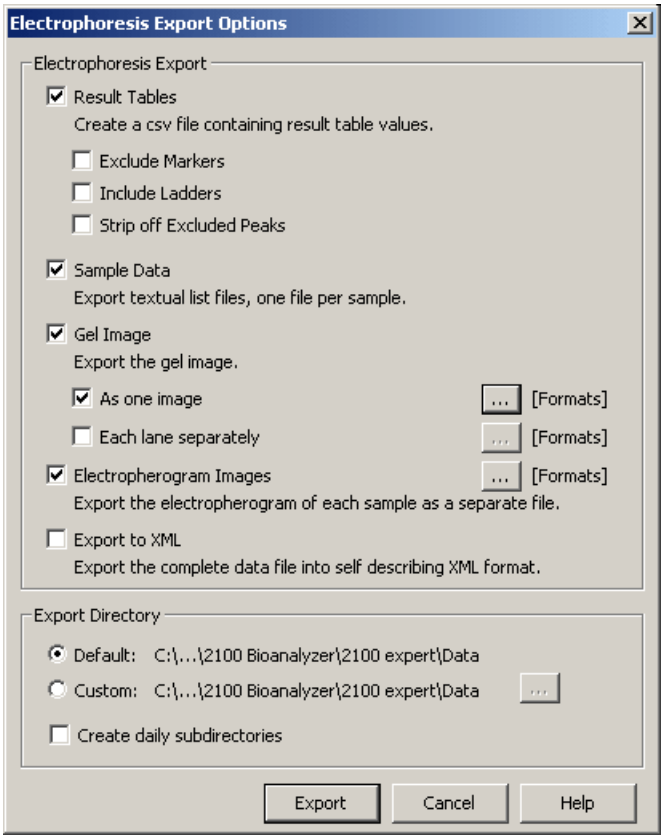
Pulsanti:

Export (Esporta)	Fare clic su questo pulsante per esportare i dati selezionati. Per ogni categoria di dati, viene visualizzata la finestra di dialogo *Save As* (Salva con nome), dove inserire i nomi dei nuovi file e le directory di destinazione.

Export Options (Opzioni di esportazione) (Elettroforesi)

Scopo

Questa finestra di dialogo viene utilizzata per esportare i dati del chip elettroforetico in diversi formati.



Accesso

Questa finestra di dialogo può essere aperta selezionando *File* > *Open* (File > Apri) con un file di dati del chip elettroforetico (.xad) selezionato.

Elementi

Categorie di esportazione dei dati *elettroforetici*

Result Tables (Tabelle dei risultati)	Crea un file .csv contenente le tabelle dei risultati. Tutti i campioni misurati vengono esportati in un file. Durante l'esportazione è possibile: • *Escludere marker* • *Includere standard* • *Togliere i picchi esclusi*
Sample Data (Dati del campione)	Esporta file elenco di testo (.csv), un file per campione. Questi file sono indirizzati ad utenti avanzati che desiderano analizzare in dettaglio i dati delle misurazioni. Sono compresi i valori attuali dei tempi di migrazione e della fluorescenza di tutti i punti dell'analisi.

Gel Image (Immagine gel-simile)	Esporta le immagini gel-simili di tutti i campioni). L'immagine gel-simile può essere esportata come: • *Immagine singola* • *Ogni corsia separatamente* Facendo clic sul pulsante ... si apre una finestra di dialogo che consente di selezionare i seguenti formati delle immagini: Windows Bitmap (.bmp), JPEG (.jpg), e Tagged Image File (.tif). Sono possibili selezioni multiple.
Electropherogram Images (Immagini degli elettroferogrammi)	Esporta le immagini degli elettroferogrammi di tutti i campioni, un'immagine per campione. Facendo clic sul pulsante ... si apre una finestra di dialogo che consente di selezionare i seguenti formati delle immagini: Windows Bitmap (.bmp), JPEG (.jpg), Tagged Image File (.tif), e Windows Meta File (.wmf). Sono possibili selezioni multiple.
Export to XML (Esporta in XML)	Scrive il contenuto completo del file .xad in un file .xml.

Impostazioni della *directory di esportazione*

Default (Predefinito)	La directory di destinazione predefinita è "..\Data\" nella cartella d'installazione di 2100 expert.
Custom (Personalizzata)	Una directory di destinazione di propria scelta. Utilizzare il pulsante ... alla destra del campo di testo per aprire la finestra di dialogo *Browse for folder* (Sfoglia per la cartella).
Create Daily Subdirectories (Crea sottodirectory giornaliere)	Se selezionato, nella directory di destinazione viene creata una sotto-directory con il formato di denominazione "AAAA-MM-GG" ed i dati d'esportazione vengono scritti in questa directory.

Pulsanti

Export (Esporta)	Fare clic su questo pulsante per esportare i dati selezionati. Per ogni categoria di dati, viene visualizzata la finestra di dialogo *Save As* (Salva con nome), dove inserire i nomi dei nuovi file e le directory di destinazione.

Auto Export (Esportazione automatica)

Scopo

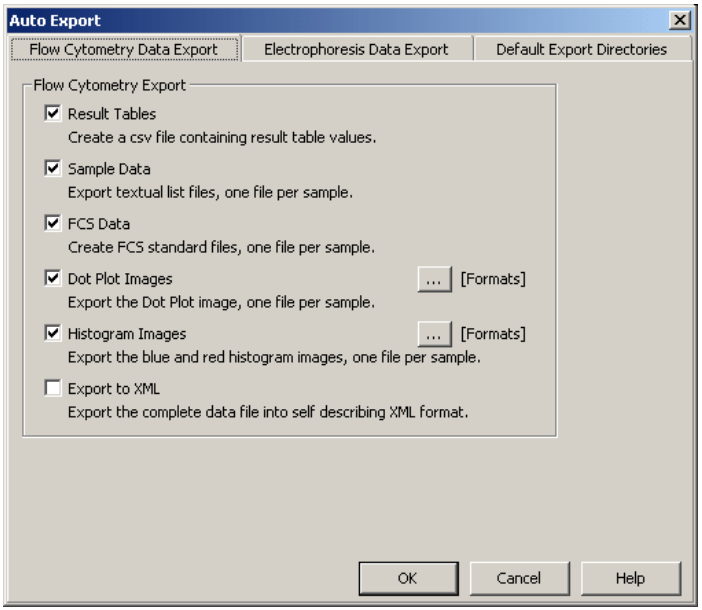
Per impostare le opzioni per l'esportazione automatica, che si attiverà ogni volta che sarà completata l'analisi di un file.

Accesso

Questa finestra di dialogo può essere aperta dalla finestra di dialogo *Options* (Opzioni) (vedere) facendo clic sul pulsante *Settings...* (Impostazioni) "Options – Advanced (Opzioni – Avanzate)" a pagina 594 accanto alla casella di controllo *Auto Export* (Esportazione automatica).

Elementi

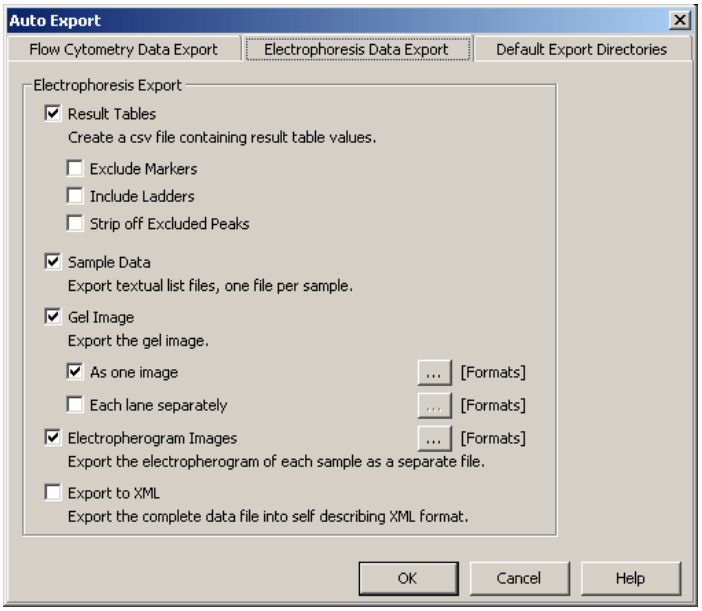
Cartella di *Flow Cytometry Data Export* (Esportazione dei dati della citometria a flusso)



Result Tables (Tabelle dei risultati)	Crea un file .csv contenente le tabelle dei risultati. Tutti i campioni misurati vengono esportati in un file.
Sample Data (Dati del campione)	Esporta file elenco di testo (.csv), un file per campione. I dati dell'evento sono indirizzati ad utenti avanzati che desiderano analizzare in dettaglio i dati. Sono compresi la data e l'ora in cui l'evento è stato misurato ed anche i valori della fluorescenza blu e rossa.

FCS Data (Dati FCS)	Crea file FCS standard (.fcs), un file per campione. Questo è il formato standard per i dati della citometria a flusso.
Dot Plot Images (Immagini dot-plot)	Esporta le immagini dot-plot di tutti i campioni, un'immagine per campione. Facendo clic sul pulsante ... si apre una finestra di dialogo che consente di selezionare i seguenti formati delle immagini: Windows Bitmap (.bmp), JPEG (.jpg), e Windows Meta File (.wmf). Sono possibili selezioni multiple.
Histogram Images (Immagini di istogrammi)	Esporta le immagini degli istogrammi di tutti i campioni, due immagini (istogramma rosso e blu) per campione. Facendo clic sul pulsante ... si apre una finestra di dialogo che consente di selezionare i seguenti formati delle immagini: Windows Bitmap (.bmp), JPEG (.jpg), e Windows Meta File (.wmf). Sono possibili selezioni multiple.
Export to XML (Esporta in XML)	Scrive il contenuto completo del file .xad in un file .xml.

Cartella di *Electrophoresis Data Export* (Esportazione dei dati elettroforetici)



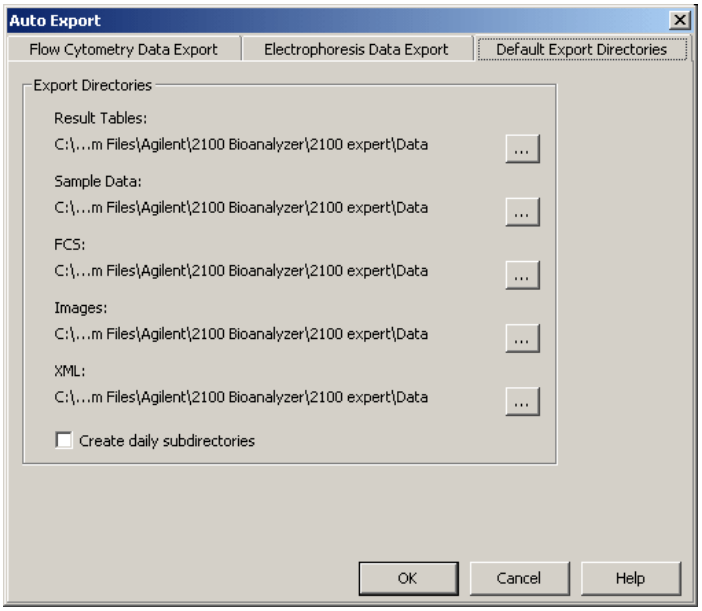
Result Tables (Tabelle dei risultati)

Crea un file .csv contenente le tabelle dei risultati. Tutti i campioni misurati vengono esportati in un file. Durante l'esportazione è possibile:

- *Escludere marker*
- *Includere standard*
- *Togliere i picchi esclusi*

Sample Data (Dati del campione)	Esporta file elenco di testo (.csv), un file per campione. Questi file sono indirizzati ad utenti avanzati che desiderano analizzare in dettaglio i dati delle misurazioni. Sono compresi i valori (dati grezzi) dei tempi di migrazione e della fluorescenza di tutti i punti dell'analisi.
Gel Image (Immagine gel-simile)	Esporta le immagini gel-simile di tutti i campioni). L'immagine gel-simile può essere esportata come: • *Immagine singola* • *Ogni corsia separatamente* Facendo clic sul pulsante ... si apre una finestra di dialogo che consente di selezionare i seguenti formati delle immagini: Windows Bitmap (.bmp), JPEG (.jpg), e Tagged Image File (.tif). Sono possibili selezioni multiple.
Electropherogram Images (Immagini degli elettroferogrammi)	Esporta le immagini degli elettroferogrammi di tutti i campioni, un'immagine per campione. Facendo clic sul pulsante ... si apre una finestra di dialogo che consente di selezionare i seguenti formati delle immagini: Windows Bitmap (.bmp), JPEG (.jpg), Tagged Image File (.tif), e Windows Meta File (.wmf). Sono possibili selezioni multiple.
Export to XML (Esporta in XML)	Scrive il contenuto completo del file .xad in un file .xml.

Cartella delle *Default Export Directories* (Directory di esportazione predefinite)



Export Directories (Directory d'esportazione)

È consigliabile specificare una singola directory di destinazione per i file di *Result Tables* (Tabelle dei risultati) *Sample Data* (Dati dei campioni), *FCS*, *Images* (Immagini) e *XML*.

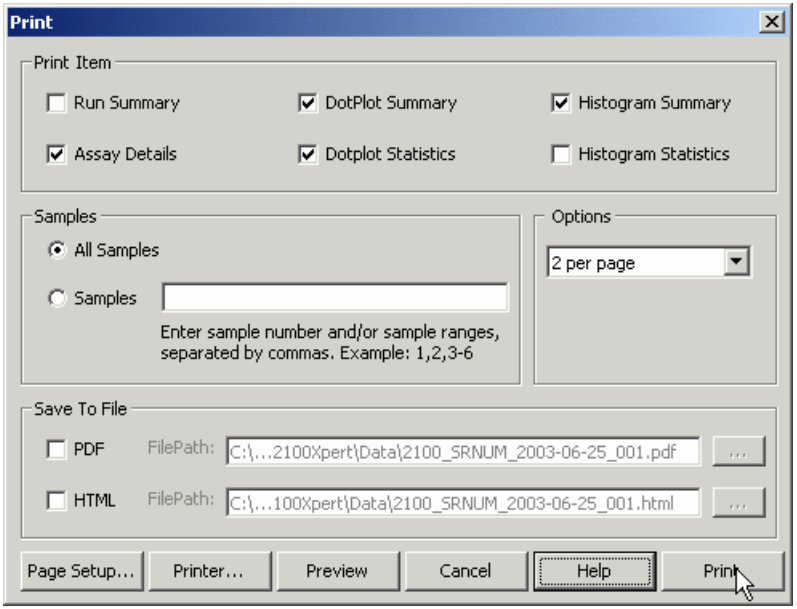
Facendo clic sul pulsante ... accanto a queste categorie, si apre una finestra di dialogo di sistema che consente di specificare la directory di destinazione della categoria.

Create Daily Subdirectories (Crea sottodirectory giornaliere)	Se selezionato, nella directory di destinazione vengono create sotto-directory con il formato di denominazione "AAAA-MM-GG" ed i dati d'esportazione vengono scritti in queste directory.

Print (Stampa) (Citometria a flusso)

Scopo

Questa finestra di dialogo viene utilizzata per impostare le opzioni di stampa dei file di dati del chip citometrico a flusso e dei file di analisi ed avviare la stampa.



Accesso

Questa finestra di dialogo può essere aperta selezionando *File* > *Open* (File > Apri) con un file di dati del chip citometrico (.xsy) o con un file di dati (.xad) del chip selezionato.

Print Item (Voci di stampa)	
Run Summary (Riassunto esecuzione)	Include nella stampa informazioni relative al chip ed al campione. Vedere la sezione "Scheda Chip Summary (Riepilogo chip)" a pagina 497.
Assay Details (Dettagli analisi)	Include nella stampa nome, percorso e impostazioni d'analisi. Vedere la sezione "Scheda Assay Properties (Proprietà d'analisi)" a pagina 487.
Dot Plot Summary (Riassunto dot-plot)	Include i dot-plot nella stampa. Vedere la sezione "Scheda Dot-Plot (Single/Grid view) (Visualizzazione singola/a griglia)" a pagina 550.
Dot Plot Statistics (Statistiche dot-plot)	Include nella stampa le tabelle dei risultati dei dot-plot. Vedere la sezione "Scheda Dot-Plot (Single/Grid view) (Visualizzazione singola/a griglia)" a pagina 550.
Histogram Summary (Riassunto istogramma)	Include nella stampa i grafici degli istogrammi. "Scheda Histogram (Single/Grid View) (Istogramma (Visualizzazione singola/a griglia))" a pagina 540
Histogram Statistics (Statistiche degli istogrammi)	Include nella stampa le tabelle dei risultati degli istogrammi. "Scheda Histogram (Single/Grid View) (Istogramma (Visualizzazione singola/a griglia))" a pagina 540

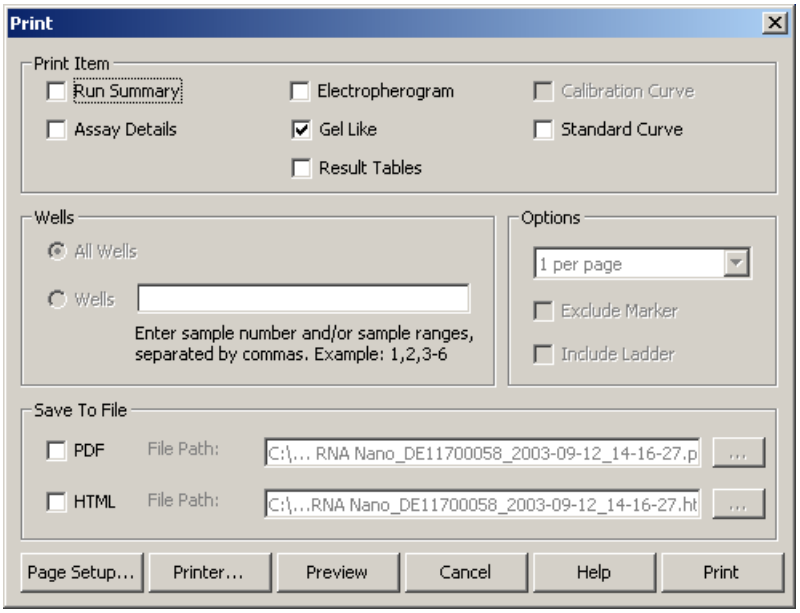
Samples (Campioni)	
All Samples (Tutti i campioni)	Stampa riassunti e statistiche per tutti i campioni.
Samples ... (Campioni)	Stampa riassunti e statistiche solo per i campioni selezionati.
Options (Opzioni)	Consente di selezionare quanti grafici di dot-plot/istogrammi stampare per ogni pagina. Ha effetto sulla stampa solo se *Dot Plot Summary* (Riepilogo dot-plot) o *Histogram Summary* (Riepilogo istogramma) sono selezionati.
Save To File (Salva su file)	
PDF	Reindirizza la stampa ad un file .pdf. Facendo clic sul pulsante ... si apre una finestra di dialogo del sistema che consente di specificare una directory di destinazione di propria scelta.
HTML	Reindirizza la stampa ad una serie di file .html. Facendo clic sul pulsante ... si apre una finestra di dialogo del sistema che consente di specificare una directory di destinazione di propria scelta.
Buttons (Pulsanti)	
Page Setup... (Impostazione pagina)	Apre la finestra di dialogo *Page Setup* (Impostazione pagina), che consente di impostare le dimensioni, l'orientamento ed i margini della pagina. Vedere anche la sezione "Page Setup... (Impostazione pagina)" a pagina 648.
Printer... (Stampante)	Apre la finestra di dialogo *Print Setup* (Impostazioni di stampa), che consentono di selezionare una stampante ed impostare le dimensioni e l'orientamento della stampa.

Preview (Anteprima)	Apre la finestra di dialogo *Report Preview (Anteprima report)* che visualizza un'anteprima di tutte le pagine che saranno stampate. Vedere anche la sezione "Report Preview (Anteprima report)" a pagina 650.
Cancel (Annulla)	Esce dalla finestra di dialogo senza stampare.
Print/Save (Stampa/Salva)	Se è stata selezionata un'opzione qualsiasi in *Save To File* (Salva su file) il pulsante riporterà l'etichetta *Save* (Salva), altrimenti *Print* (Stampa). *Print* avvia la stampa. *Save* (Salva) avvia la scrittura della stampa in file .pdf e/o .html.

Print (Stampa) (Elettroforesi)

Scopo

Questa finestra di dialogo viene utilizzata per impostare le opzioni di stampa dei file di dati del chip elettroforetico o dei file di analisi ed avviare la stampa.



Accesso

Questa finestra di dialogo può essere aperta selezionando *File* > *Open* (File > Apri) con un file di analisi elettroforetica (.xsy) o con un file di dati (.xad) del chip selezionato.

Print Item (Voci di stampa)	
Run Summary (Riassunto esecuzione)	Include nella stampa informazioni relative al chip ed al campione. Vedere la sezione "Scheda Chip Summary (Riepilogo chip)" a pagina 497.
Assay Details (Dettagli analisi)	Include nella stampa nome, percorso e impostazioni d'analisi. Vedere la sezione "Scheda Assay Properties (Proprietà d'analisi)" a pagina 487.
Electropherogram (Elettroferogramma)	Include nella stampa i grafici degli elettroferogrammi. Vedere la sezione "Scheda Electropherogram (Single/Grid View) (Elettroferogramma (Visualizzazione singola/griglia))" a pagina 526.
Gel Like (Gel-simile)	Include un'immagine gel-simile nella stampa (per tutti i campioni). Vedere la sezione "Scheda Gel" a pagina 509.
Result Tables (Tabelle dei risultati)	Include nella stampa le tabelle dei risultati.
Calibration Curve (Curva di calibrazione)	Include nella stampa il grafico di una curva di calibrazione. Vedere la sezione "Scheda Chip Summary (Riepilogo chip)" a pagina 497.
Curva standard	Include nella stampa il grafico di una curva standard. Vedere la sezione "Scheda Chip Summary (Riepilogo chip)" a pagina 497.

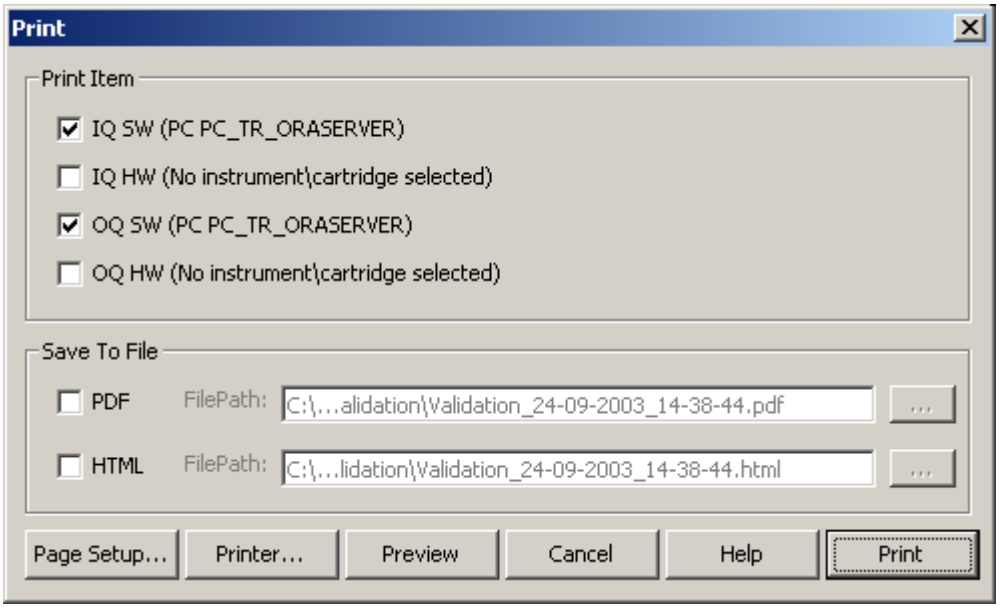
Wells (Pozzetti)	
All Wells (Tutti i pozzetti)	Stampa riassunti e statistiche per tutti i campioni.
Wells ... (Pozzetti)	Stampa riassunti e statistiche solo per i campioni selezionati.
Options (Opzioni)	Consente di selezionare quanti elettroferogrammi stampare per pagina. Ha influenza sulla stampa solo se *Electropherogram* (Elettroferogramma) è selezionato in *Print Item* (Voci di stampa). È anche possibile: • *Escludere marker* • *Includere standard*
Save To File (Salva su file)	
PDF	Reindirizza la stampa ad un file .pdf. Facendo clic sul pulsante ... si apre una finestra di dialogo del sistema che consente di specificare una directory di destinazione di propria scelta.
HTML	Reindirizza la stampa ad una serie di file .html. Facendo clic sul pulsante ... si apre una finestra di dialogo del sistema che consente di specificare una directory di destinazione di propria scelta.

Buttons (Pulsanti)	
Page Setup... (Impostazione pagina)	Apre la finestra di dialogo *Page Setup* (Impostazione pagina), che consente di impostare le dimensioni, l'orientamento ed i margini della pagina. Vedere anche la sezione "Page Setup... (Impostazione pagina)" a pagina 648.
Printer... (Stampante)	Apre la finestra di dialogo *Print Setup* (Impostazioni di stampa), che consentono di selezionare una stampante ed impostare le dimensioni e l'orientamento della stampa.
Preview (Anteprima)	Apre la finestra di dialogo *Report Preview (Anteprima report)* che visualizza un'anteprima di tutte le pagine che saranno stampate. Vedere anche la sezione "Report Preview (Anteprima report)" a pagina 650.
Cancel (Annulla)	Esce dalla finestra di dialogo senza stampare.
Print/Save (Stampa/Salva)	Se è stata selezionata un'opzione qualsiasi in *Save To File* (Salva su file) il pulsante riporterà l'etichetta *Save* (Salva), altrimenti *Print* (Stampa). *Print* avvia la stampa. *Save* avvia la scrittura della stampa in file .pdf e/o .html.

Print (Stampa) (Validazione)

Scopo

Questa finestra di dialogo viene utilizzata per impostare le opzioni di stampa per i report di validazione ed avviare la stampa.



Accesso

Questa finestra di dialogo può essere aperta selezionando *File* > *Print...* (File > Stampa) con un file di validazione (.xvd) selezionato nel Contesto Validation (Validazione).

Elementi

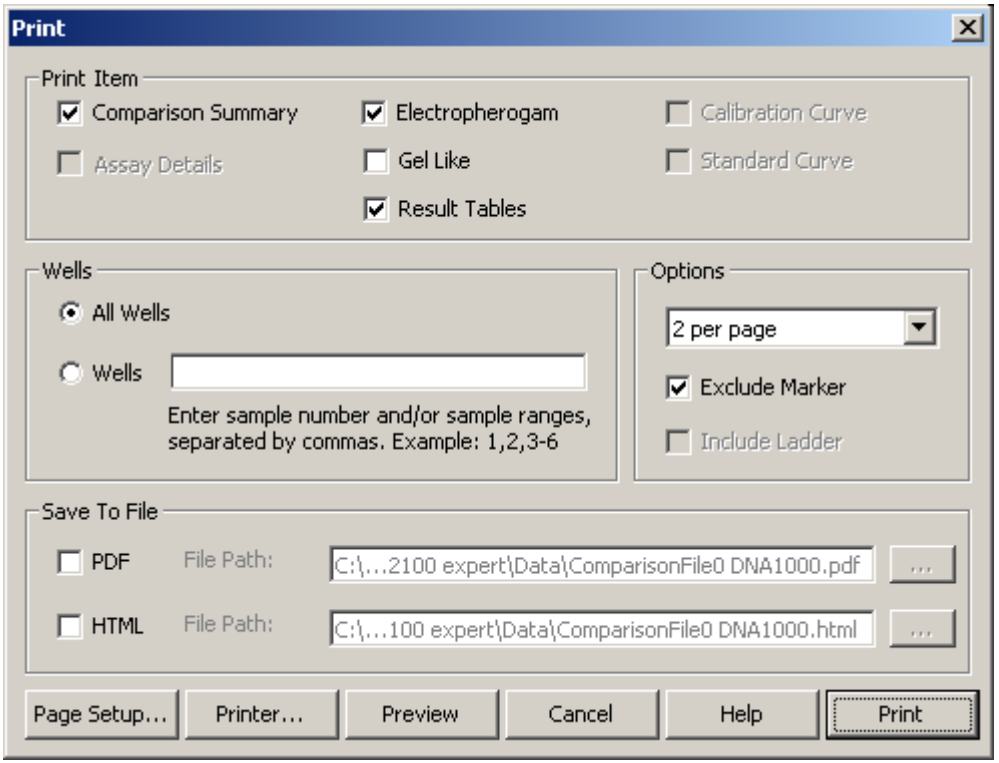
Print Item (Voci di stampa)	
IQ SW	Include i risultati di tutti i test di qualificazione per il software del sistema 2100 expert.
IQ HW	Include i risultati di tutti i test di qualificazione per l'hardware del sistema Bioanalizzatore Agilent 2100 .
OQ SW	Include i risultati di tutti i test di qualificazione operativa per il software del sistema 2100 expert.
OQ SW	Include i risultati di tutti i test di qualificazione operativa per l'hardware del sistema Bioanalizzatore Agilent 2100 .
Save To File (Salva su file)	
PDF	Reindirizza la stampa ad un file .pdf. Facendo clic sul pulsante ... si apre una finestra di dialogo del sistema che consente di specificare una directory di destinazione di propria scelta.
HTML	Reindirizza la stampa ad una serie di file .html. Facendo clic sul pulsante ... si apre una finestra di dialogo del sistema che consente di specificare una directory di destinazione di propria scelta.

Pulsanti	
Page Setup... (Impostazione pagina)	Apre la finestra di dialogo *Page Setup*, che consente di impostare le dimensioni, l'orientamento ed i margini della pagina. Vedere anche la sezione "Page Setup... (Impostazione pagina)" a pagina 648.
Printer... (Stampante)	Apre la finestra di dialogo *Print Setup* (Impostazioni di stampa), che consentono di selezionare una stampante ed impostare le dimensioni e l'orientamento della stampa.
Preview (Anteprima)	Apre la finestra di dialogo *Report Preview (Anteprima report)* che visualizza un'anteprima di tutte le pagine che saranno stampate. Vedere anche la sezione "Report Preview (Anteprima report)" a pagina 650.
Cancel (Annulla)	Esce dalla finestra di dialogo senza stampare.
Print/Save (Stampa/Salva)	Se è stata selezionata un'opzione qualsiasi in *Save To File* (Salva su file) il pulsante riporterà l'etichetta *Save* (Salva), altrimenti *Print* (Stampa). *Print* avvia la stampa. *Save* avvia la scrittura della stampa in file .pdf e/o .html.

Print (Stampa) (Confronto)

Scopo

Questa finestra di dialogo viene utilizzata per impostare le opzioni di stampa per i report di confronto ed avviare la stampa.



Accesso

Questa finestra di dialogo può essere aperta selezionando *File* > *Print...* (File > Stampa) con un file di confronto (.xac) selezionato nel Contesto Comparison (Confronto).

Elementi

Print Item (Voci di stampa)	
Comparison Summary (Riassunto del confronto)	Include nella stampa informazioni sul file di confronto.
Assay Details (Dettagli analisi)	Include nella stampa nome, percorso e impostazioni d'analisi. Vedere la sezione "Scheda Assay Properties (Proprietà d'analisi)" a pagina 487.
Electropherogram (Elettroferogramma)	Include nella stampa i grafici degli elettroferogrammi. Vedere la sezione "Scheda Electropherogram (Single/Grid View) (Elettroferogramma (Visualizzazione singola/griglia))" a pagina 526.
Gel Like (Gel-simile)	Include un'immagine gel-simile nella stampa (per tutti i campioni). Vedere la sezione "Scheda Gel" a pagina 509.
Result Tables (Tabelle dei risultati)	Include nella stampa le tabelle dei risultati.

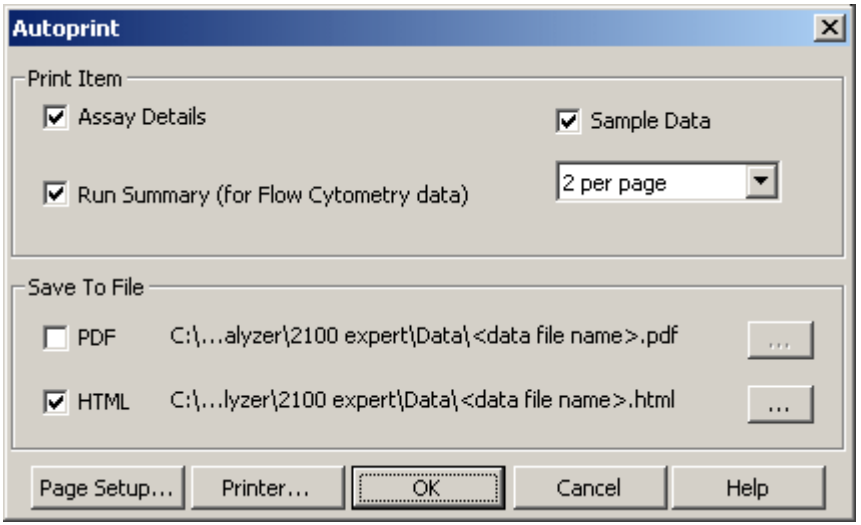
Calibration Curve (Curva di calibrazione)	Include nella stampa il grafico di una curva di calibrazione. Vedere la sezione "Scheda Chip Summary (Riepilogo chip)" a pagina 497.
Standard Curve (Curva standard)	Include nella stampa il grafico di una curva standard. Vedere la sezione "Scheda Chip Summary (Riepilogo chip)" a pagina 497.
Wells (Pozzetti)	
All Wells (Tutti i pozzetti)	Stampa riassunti e statistiche per tutti i campioni.
Wells ... (Pozzetti)	Stampa riassunti e statistiche solo per i campioni selezionati.
Options (Opzioni)	Consente di selezionare quanti elettroferogrammi stampare per pagina. Ha influenza sulla stampa solo se *Electropherogram* (Elettroferogramma) è selezionato. Se *Result Tables* (Tabelle dei risultati) è selezionato, è anche possibile fare clic su *Exclude Markers* (Escludi marker) per escludere i marker.
Save To File (Salva su file)	
PDF	Reindirizza la stampa ad un file .pdf. Facendo clic sul pulsante ... si apre una finestra di dialogo del sistema che consente di specificare una directory di destinazione di propria scelta.
HTML	Reindirizza la stampa ad una serie di file .html. Facendo clic sul pulsante ... si apre una finestra di dialogo del sistema che consente di specificare una directory di destinazione di propria scelta.

Buttons (Pulsanti)	
Page Setup... (Impostazione pagina)	Apre la finestra di dialogo *Page Setup* (Impostazione pagina), che consente di impostare le dimensioni, l'orientamento ed i margini della pagina. Vedere anche la sezione "Page Setup... (Impostazione pagina)" a pagina 648.
Printer... (Stampante)	Apre la finestra di dialogo *Print Setup* (Impostazioni di stampa), che consentono di selezionare una stampante ed impostare le dimensioni e l'orientamento della stampa.
Preview (Anteprima)	Apre la finestra di dialogo *Report Preview (Anteprima report)* che visualizza un'anteprima di tutte le pagine che saranno stampate. Vedere anche la sezione "Report Preview (Anteprima report)" a pagina 650.
Cancel (Annulla)	Esce dalla finestra di dialogo senza stampare.
Print/Save (Stampa/Salva)	Se è stata selezionata un'opzione qualsiasi in *Save To File* (Salva su file) il pulsante riporterà l'etichetta *Save* (Salva), altrimenti *Print* (Stampa). *Print* avvia la stampa. *Save* (Salva) avvia la scrittura della stampa in file .pdf e/o .html.

Auto Print (Stampa automatica)

Scopo

Per impostare le opzioni per la stampa automatica, che sarà generata ogni volta che sarà completata l'analisi di un chip.



Accesso

Questa finestra di dialogo può essere aperta dalla finestra di dialogo *Options* (Opzioni) (vedere) facendo clic sul pulsante *Settings...* (Impostazioni) "Options – Advanced (Opzioni – Avanzate)" a pagina 594 accanto alla casella di controllo *Auto Print* (Stampa automatica).

Elementi

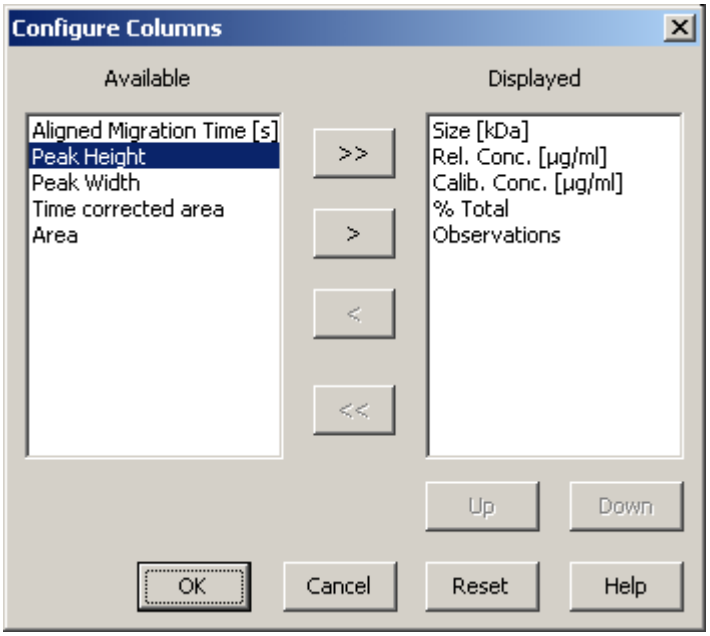
Print Item (Voci di stampa)	
Assay Details (Dettagli analisi)	Include nella stampa nome, percorso e impostazioni d'analisi. Vedere la sezione "Scheda Assay Properties (Proprietà d'analisi)" a pagina 487.
Run Summary (Riassunto analisi) (per i dati della citometria a flusso)	Include nella stampa informazioni relative al chip ed al campione. Vedere la sezione "Scheda Chip Summary (Riepilogo chip)" a pagina 497.
Sample Data (Dati del campione)	Include nella stampa automatica dati relativi al campione. I dati dipendono dal tipo di analisi: elettroferogrammi ed immagini gel-simile o istogrammi e dot-plot. Consente di selezionare quanti elettroferogrammi/istogrammi/ dot-plot stampare *per ogni pagina*.
Save To File (Salva su file)	
PDF	Ridirige la stampa automatica ad un file .pdf.
HTML	Reindirizza la stampa automatica ad una serie di file .html.

Buttons (Pulsanti)	
Page Setup... (Impostazione pagina)	Apre la finestra di dialogo *Page Setup* (Impostazione pagina), che consente di impostare le dimensioni, l'orientamento ed i margini della pagina. Vedere anche la sezione "Page Setup... (Impostazione pagina)" a pagina 648.
Printer... (Stampante)	Apre la finestra di dialogo *Print Setup* (Impostazioni di stampa), che consentono di selezionare una stampante ed impostare le dimensioni e l'orientamento della stampa.
OK	Accetta le nuove impostazioni di stampa automatica.

Configure Columns... (Configura colonne)

Scopo

Questa finestra di dialogo viene utilizzata per mostrare o nascondere le colonne delle tabelle.



Accesso

Questa finestra di dialogo può essere visualizzata aprendo il menu del contesto in una tabella dei risultati sulla scheda *Dot Plot*, *Histogram* (Istogramma) *Gel*, o *Electropherogram* (Elettroferogramma) e selezionando *Configure Columns...* (Configura colonne).

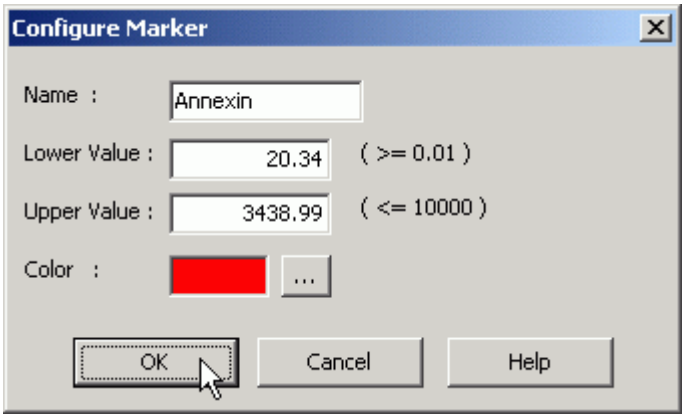
Elementi

Available (Disponibili)	L'elenco a sinistra mostra tutte le colonne disponibili ma attualmente non visualizzate.
Displayed (Visualizzate)	Questo elenco sulla destra mostra tutte le colonne che sono attualmente visualizzate. La sequenza di questo elenco è correlata alla sequenza delle colonne.
>	Sposta la voce selezionata dall'elenco di sinistra a quello di destra. La voce selezionata sarà visualizzata nella tabella dei risultati nella posizione corrispondente.
>>	Sposta nell'elenco di destra tutte le voci dell'elenco a sinistra. Tutti i risultati disponibili saranno visualizzati nell'ordine dato dall'elenco.
<	Fare clic su questo pulsante per spostare nell'elenco di sinistra le voci selezionate sull'elenco di destra . Le voci selezionate non saranno più visualizzate nella tabella.
<<	Fare clic su questo pulsante per spostare nell'elenco di sinistra le voci dell'elenco di destra . Non saranno visualizzati risultati nella tabella.
Up (In alto)	Sposta la colonna selezionata di una posizione a sinistra.
Down (In basso)	Sposta la colonna selezionata di una posizione a destra.
Reset (Azzera)	Ristabilisce la configurazione iniziale della tabella.

Configure Marker (Configura marker)

Scopo

Questa finestra di dialogo viene utilizzata per impostare le proprietà del marker selezionato in un istogramma.



Accesso

Questa finestra di dialogo può essere aperta facendo doppio clic su un marker o facendo doppio clic sulla riga corrispondente della tabella dei risultati di un istogramma.

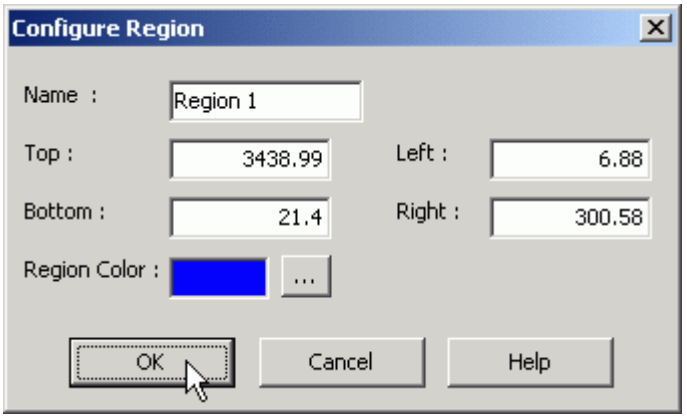
Elementi

Name (Nome)	Inserire un nome per l'area. Nomi facili da ricordare, per esempio il colorante utilizzato, rendono più semplice l'identificazione del marker.
Lower Value/ Upper Value (Valore inferiore/ Valore superiore)	Inserire i valori per il livello inferiore (linea sinistra del marker) e per il livello superiore (linea destra del marker). Queste linee definiscono un intervallo di fluorescenza relativa che può essere utilizzata per il filtro.
Color (Colore)	Fare clic sul pulsante ... per visualizzare la finestra di dialogo *Color* (Colore) dove è possibile selezionare un colore per il marker ed assegnarlo facendo clic su *OK.*

Configure Region (Configura area)

Scopo

Questa finestra di dialogo viene utilizzata per impostare le proprietà dell'area selezionata di un dot-plot.



Accesso

Questa finestra di dialogo può essere aperta facendo doppio clic su un'area o facendo doppio clic sulla riga corrispondente della tabella dei risultati di un dot-plot.

Elementi

Name (Nome)	Inserire il nome dell'area. Nomi facili da ricordare, per esempio il colore, rendono più semplice l'identificazione dell'area.
Alto, basso, sinistra, destra	I quattro valori definiscono un'area rettangolare. Le dimensioni dell'area possono essere modificate inserendo valori diversi o trascinando i bordi con il mouse.
Region Color (Colore dell'area)	Fare clic sul pulsante per aprire la finestra di dialogo *Color* (Colore) dove è possibile selezionare un colore per l'area ed assegnarla facendo clic su *OK*.

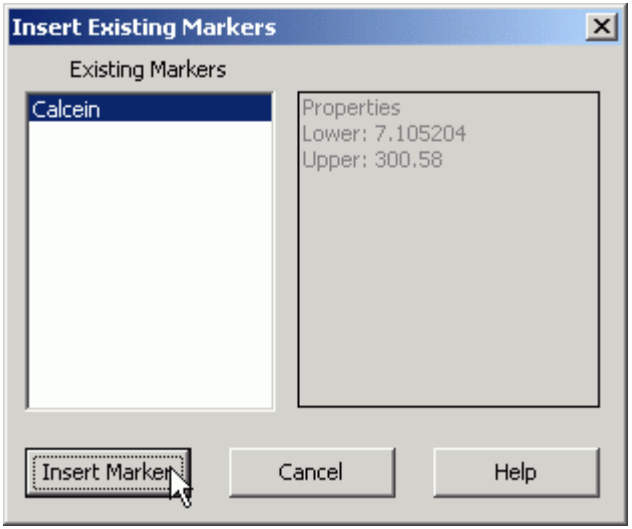
Insert Existing Markers (Inserisci marker esistenti)

Scopo

Questa finestra di dialogo viene utilizzata per aggiungere marker esistenti all'istogramma.

Accesso

Quando un istogramma viene visualizzato in formato singolo (vedere la sezione "Scheda Histogram (Single/Grid View) (Istogramma (Visualizzazione singola/a griglia))" a pagina 540), fare clic sul pulsante della barra degli strumenti (vedere la sezione "Contesto Data and Assay (Dati e analisi) - Barra degli strumenti Flow Cytometry (Citometria a flusso)" a pagina 441) per aprire questa finestra di dialogo.



Descrizione

Vengono elencate tutte le aree, tranne quelle che sono già utilizzate dall'istogramma attuale.

Elementi

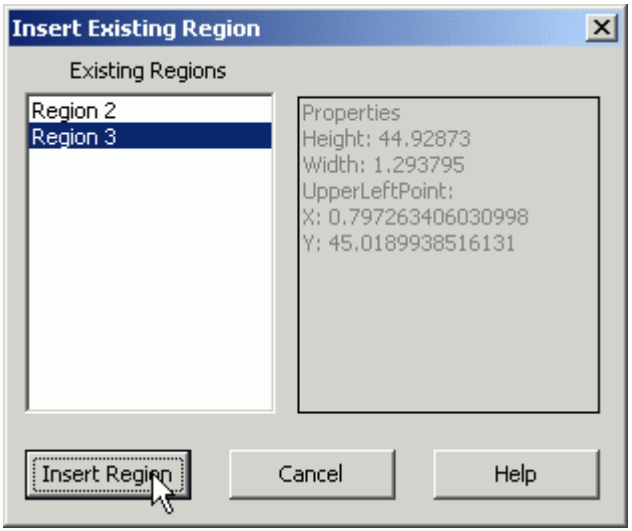
Existing Markers (Marker esistenti)	Elenco dei marker disponibili per l'istogramma attuale.
Information frame (Riquadro delle informazioni)	Sul lato destro della finestra di dialogo vengono visualizzati i limiti inferiore e superiore dei marker.
Insert Marker (Inserisci marker)	Fare clic su questo pulsante per inserire il marker selezionato nell'istogramma attuale.

Se si modificano le proprietà di un marker, queste cambieranno di conseguenza in tutti gli altri istogrammi che utilizzano questo marker.

Insert Existing Region (Inserisci area esistente)

Scopo

Questa finestra di dialogo viene utilizzata per aggiungere un'area esistente ad un dot-plot.



Accesso

Quando un dot-plot viene visualizzato in formato singolo (vedere la sezione "Scheda Dot-Plot (Single/Grid view) (Visualizzazione singola/a griglia)" a pagina 550), fare clic sul pulsante della barra degli strumenti (vedere "Contesto Data and Assay (Dati e analisi) - Barra degli strumenti Flow Cytometry (Citometria a flusso)" a pagina 441) per aprire questa finestra di dialogo.

Descrizione

Vengono elencate tutte le aree, tranne quelle che sono già utilizzate dal dot-plot attuale.

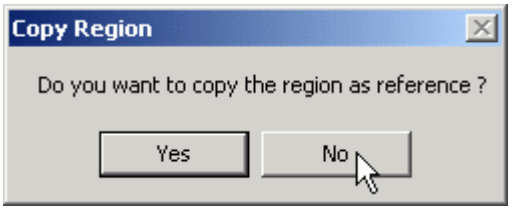
Existing Regions (Aree esistenti)	Elenco delle aree disponibili per il dot-plot attuale.
Information frame (Riquadro delle informazioni)	Sul lato destro della finestra di dialogo vengono visualizzate le proprietà dell'area selezionata. Le coordinate x e y corrispondono all'angolo in alto a sinistra dell'area.
Insert Region (Inserisci area)	Fare clic su questo pulsante per inserire l'area selezionata nel dot-plot attuale.

Se si modificano le proprietà di un'area, queste cambieranno di conseguenza in tutti gli altri dot-plot che utilizzano questa area.

Copy Region (Copia area)

Scopo

Per confermare o saltare l'utilizzo dell'area attualmente selezionata come area di riferimento per tutti i campioni.



Accesso

La finestra di dialogo viene visualizzata facendo clic sul pulsante *Insert region into all dot plots...* (Inserisci area in tutti i dot-plot...).

Elementi

L'area inserita può essere utilizzata come area di riferimento. Quando si modifica l'area di riferimento, saranno modificate anche tutte le aree inserite nel campione.

Yes (Si)	Utilizza l'area selezionata come area di riferimento.
No	Stabilisce che le regioni inserite nei dot-plot *non* devono essere modificate quando viene modificata l'area di riferimento.

Vedere anche la sezione "Come inserire un'area in tutti i dot-plot" a pagina 267 per informazioni dettagliate sulle aree di riferimento.

Copy Marker (Copia marker)

Scopo

Per confermare o saltare l'utilizzo del marker attualmente selezionato come marker di riferimento per tutti i campioni.



Accesso

La finestra di dialogo viene visualizzata facendo clic sul pulsante *Insert selected marker into all histograms* (Inserisci i marker selezionati in tutti gli istogrammi).

Elementi

Il marker selezionato attualmente può essere utilizzato come marker di riferimento. Quando si modifica il marker di riferimento, saranno modificati anche tutti i marker inseriti nel campione.

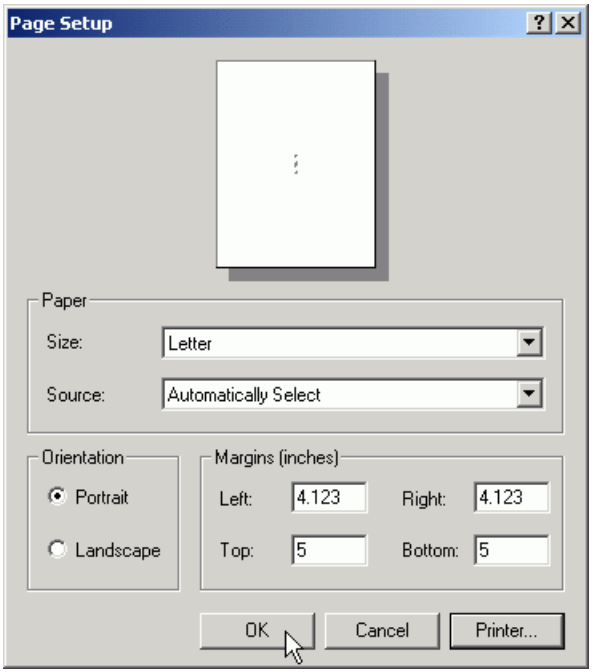
Yes (Si)	Fare clic su *Yes* per utilizzare il marker attualmente selezionato come riferimento.
No	Fare clic su *No,* se tutti i marker inseriti nell'istogramma *non* devono essere modificati quando viene modificato il marker di riferimento.

Vedere anche la sezione "Come copiare i marker in tutti gli istogrammi" a pagina 251 per informazioni dettagliate sui marker di riferimento.

Page Setup... (Impostazione pagina)

Scopo

Questa finestra di dialogo consente di modificare l'aspetto della pagina stampata.



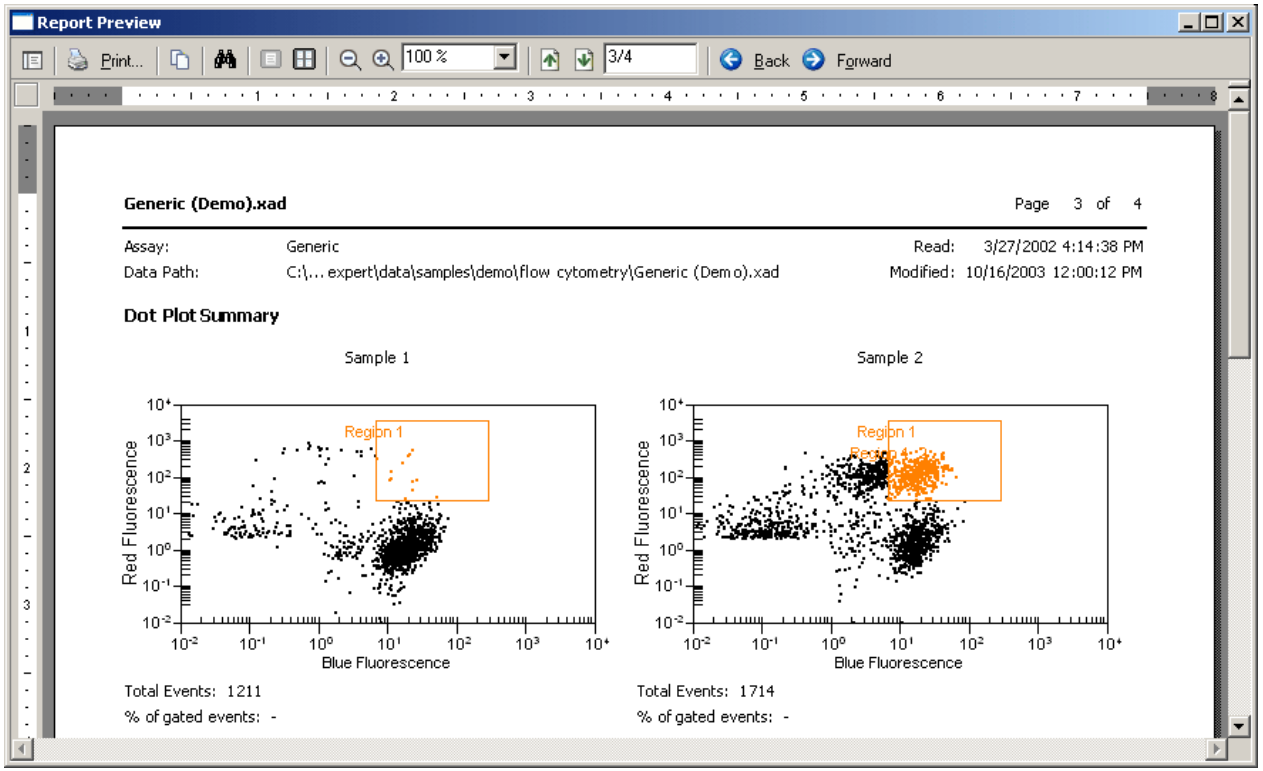
Elementi

Size (Dimensione)	Consente di selezionare il formato della carta.
Source (Origine)	Consente di specificare il vassoio da cui deve essere prelevata la carta. Il contenuto dell'elenco dipende dalla stampante selezionata.
Portrait (Orientamento verticale)	Stampa i dati con orientamento verticale.
Landscape (Orientamento orizzontale)	Stampa i dati con orientamento orizzontale.
Margins (Margini)	Definisce i bordi della pagina che si desidera stampare. Le impostazioni disponibili dipendono dal formato della carta.
Printer... (Stampante)	Apre una finestra di dialogo che consente di selezionare una stampante.

Report Preview (Anteprima report)

Scopo

Questa finestra viene utilizzata per visualizzare un'anteprima di tutte le pagine che saranno stampate.



Accesso

Per aprire questa finestra fare clic sul pulsante *Preview* (Anteprima) della finestra di dialogo *Print* (Stampa).

Elementi

È possibile sfogliare l'anteprima di stampa e modificare la visualizzazione utilizzando le funzioni della barra degli strumenti:

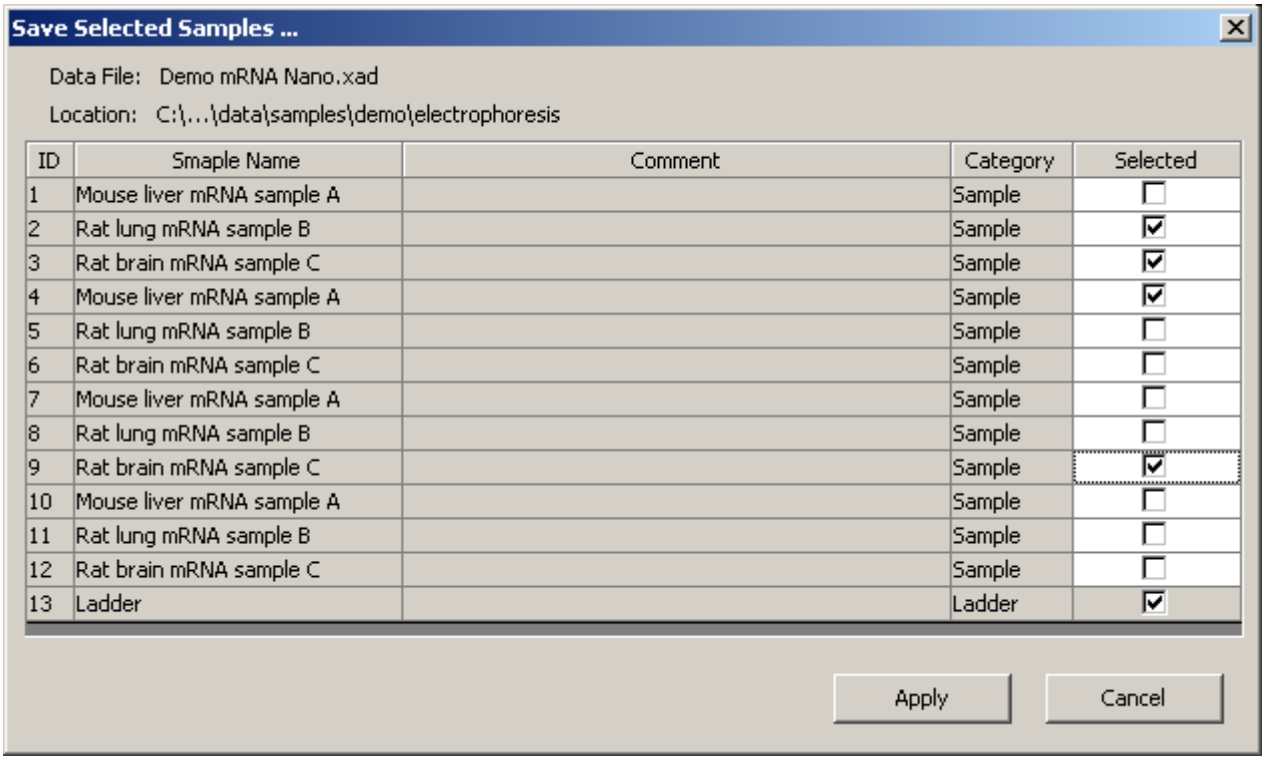
Table of Contents (Indice)	Visualizza un pannello di navigazione sul lato sinistro della finestra.
Print... (Stampa)	Fare clic su questo pulsante per aprire una finestra di dialogo di sistema che consente di selezionare una stampante ed avviare una stampa.
Copy (Copia)	Mette il testo della pagina attuale negli appunti.
Find (Trova)	Consente di ricercare la stampa di ogni stringa di testo.
Single Page (Pagina singola)	Passa all'anteprima a pagina singola.
Multiple Pages (Pagine multiple)	Passa all'anteprima a pagine multiple.
Zoom Out (Zoom indietro)	Consente di ridurre l'anteprima di stampa.
Zoom In (Zoom avanti)	Consente di ingrandire l'anteprima di stampa.

Zoom	Consente di selezionare un fattore di zoom.
Previous Page (Pagina precedente)	Scorre indietro di una pagina.
Next Page (Pagina successiva)	Scorre avanti di una pagina.
Back (Indietro)	Ritorna indietro all'ultima pagina visualizzata.
Forward (Avanti)	Torna avanti all'ultima pagina visualizzata.

Save Selected Samples (Salva campioni selezionati)

Scopo

Questa finestra di dialogo viene utilizzata per selezionare un sottoinsieme dei campioni del file .xad attuale, per il salvataggio.


Save Selected Samples ...
Data File: Demo mRNA Nano.xad
Location: C:\...\data\samples\demo\electrophoresis
ID
Smaple Name
Comment
Category
Selected
1 Mouse liver mRNA sample A Sample
2 Rat lung mRNA sample B Sample
3 Rat brain mRNA sample C Sample
4 Mouse liver mRNA sample A Sample
5 Rat lung mRNA sample B Sample
6 Rat brain mRNA sample C Sample
7 Mouse liver mRNA sample A Sample
8 Rat lung mRNA sample B Sample
9 Rat brain mRNA sample C Sample
10 Mouse liver mRNA sample A Sample
11 Rat lung mRNA sample B Sample
12 Rat brain mRNA sample C Sample
13 Ladder Ladder
Apply
Cancel

Accesso

Se è stato selezionato un file .xad, è possibile aprire questa finestra di dialogo nel contesto *Data and Assay* (Dati e analisi) selezionando *Save Selected Sample...* (Salva campione selezionato) sul menu *File.*

Elementi

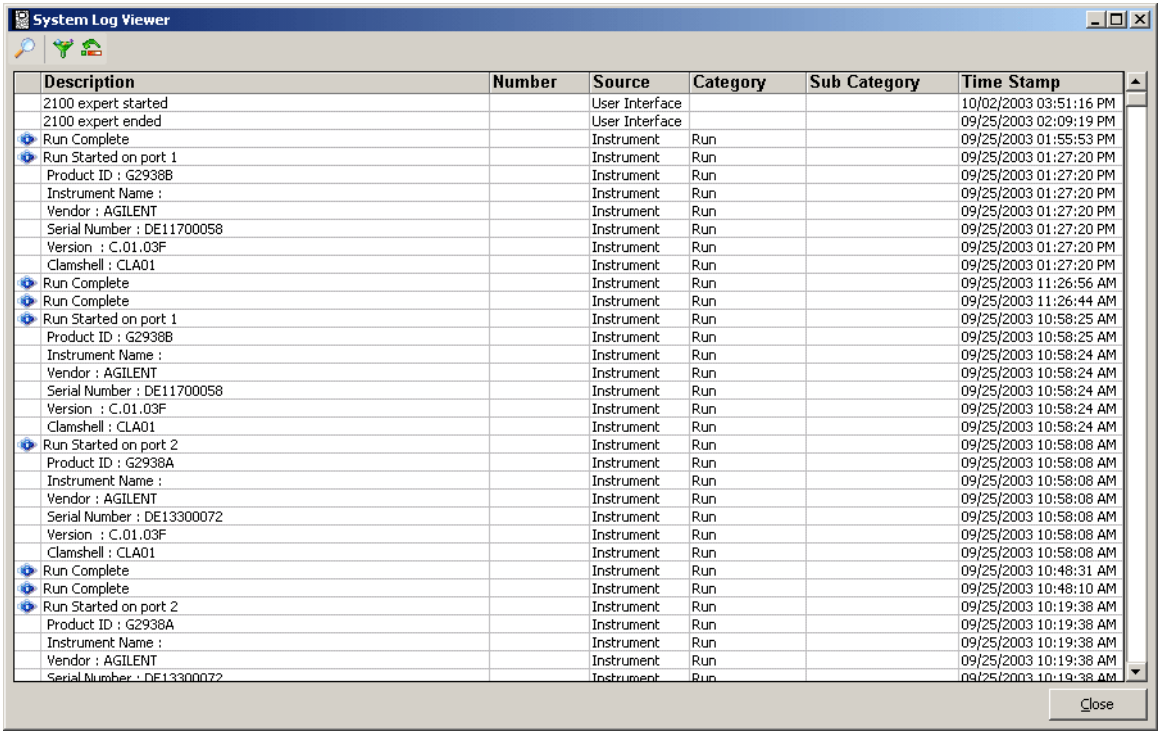
Data File (File di dati)	Nome del file di dati del chip (.xad) selezionato per il salvataggio selettivo.
Location (Posizione)	Percorso per il *file di dati*.
ID	Numero del campione.
Sample Name (Nome del campione)	Nome del campione.
Comment (Commento)	Commento del campione.
Category (Categoria)	Tipo di campione: • *Campione* • *Standard* (solo analisi elettroforetica)
Selected (Selezionato)	Tutti i campioni qui selezionati saranno salvati in un nuovo file .xad. Non è possibile deselezionare lo *Standard* (solo analisi elettroforetica).

Apply (Applica)	Apre la finestra di dialogo *Save Select Sample* (Salva campione selezionato) che consente di salvare un nuovo file .xad o .xsy contenente solo i campioni selezionati.
Cancel (Annulla)	Ritorna a 2100 expert senza selezionare o salvare nulla.

System Log Viewer (Visualizzatore del registro di sistema)

Scopo

La *tabella* di registro del sistema mostra gli eventi di tutto il sistema. Per esempio è possibile vedere chi ha avviato il software 2100 expert e quando.



Description	Number	Source	Category	Sub Category	Time Stamp
2100 expert started		User Interface			10/02/2003 03:51:16 PM
2100 expert ended		User Interface			09/25/2003 02:09:19 PM
Run Complete		Instrument	Run		09/25/2003 01:55:53 PM
Run Started on port 1		Instrument	Run		09/25/2003 01:27:20 PM
Product ID : G2938B		Instrument	Run		09/25/2003 01:27:20 PM
Instrument Name :		Instrument	Run		09/25/2003 01:27:20 PM
Vendor : AGILENT		Instrument	Run		09/25/2003 01:27:20 PM
Serial Number : DE11700058		Instrument	Run		09/25/2003 01:27:20 PM
Version : C.01.03F		Instrument	Run		09/25/2003 01:27:20 PM
Clamshell : CLA01		Instrument	Run		09/25/2003 01:27:20 PM
Run Complete		Instrument	Run		09/25/2003 11:26:56 AM
Run Complete		Instrument	Run		09/25/2003 11:26:44 AM
Run Started on port 1		Instrument	Run		09/25/2003 10:58:25 AM
Product ID : G2938B		Instrument	Run		09/25/2003 10:58:25 AM
Instrument Name :		Instrument	Run		09/25/2003 10:58:24 AM
Vendor : AGILENT		Instrument	Run		09/25/2003 10:58:24 AM
Serial Number : DE11700058		Instrument	Run		09/25/2003 10:58:24 AM
Version : C.01.03F		Instrument	Run		09/25/2003 10:58:24 AM
Clamshell : CLA01		Instrument	Run		09/25/2003 10:58:24 AM
Run Started on port 2		Instrument	Run		09/25/2003 10:58:08 AM
Product ID : G2938A		Instrument	Run		09/25/2003 10:58:08 AM
Instrument Name :		Instrument	Run		09/25/2003 10:58:08 AM
Vendor : AGILENT		Instrument	Run		09/25/2003 10:58:08 AM
Serial Number : DE13300072		Instrument	Run		09/25/2003 10:58:08 AM
Version : C.01.03F		Instrument	Run		09/25/2003 10:58:08 AM
Clamshell : CLA01		Instrument	Run		09/25/2003 10:58:08 AM
Run Complete		Instrument	Run		09/25/2003 10:48:31 AM
Run Complete		Instrument	Run		09/25/2003 10:48:10 AM
Run Started on port 2		Instrument	Run		09/25/2003 10:19:38 AM
Product ID : G2938A		Instrument	Run		09/25/2003 10:19:38 AM
Instrument Name :		Instrument	Run		09/25/2003 10:19:38 AM
Vendor : AGILENT		Instrument	Run		09/25/2003 10:19:38 AM
Serial Number : DE13300072		Instrument	Run		09/25/2003 10:19:38 AM

Anche errori e problemi dell'hardware o del software vengono riportati dal file di registro del sistema.

Accesso

Per aprire questa finestra di dialogo, fare clic su *System Log* (Registro del sistema) sul menu *Tools* (Strumenti).

System Log Table (Tabella del registro di sistema)

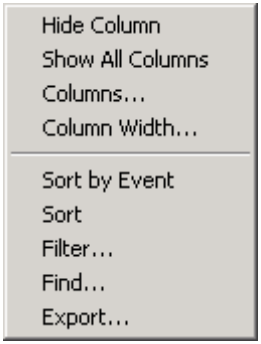
La tabella del registro di sistema è composta dalle seguenti colonne:

Description (Descrizione)	Messaggio di testo che descrive la voce del registro di sistema.
Number (Numero)	Numero dell'errore.
Source (Origine)	Origine che ha lanciato la voce del registro di sistema: "Lettore", "Strumento" o "Interfaccia utente".
Category (Categoria)	"Misurazione", "Sistema", "Riservata", "Campione" o "Analisi".
User (Utente)	L'utente che era registrato sull'*Host* quando è stata creata la voce del registro.
Host	Nome del computer su cui è stato creato il file di registro del sistema.
Time Stamp (Data e ora)	Data e ora in cui è stata creata la voce del registro di sistema.

La tabella del registro di sistema viene salvata nel file "SystemLogBook.log" (situato nella sottodirectory "..\log"). È possibile limitare lo spazio su disco allocato dal file di registro del sistema (vedere la sezione “Options – Advanced (Opzioni – Avanzate)” a pagina 594).

Menu del contesto

Facendo clic con il pulsante destro sulla tabella del registro di sistema si provoca l'apertura di un menu del contesto:



Hide Column (Nascondi colonna)	Nasconde la colonna selezionata.
Show All Columns (Mostra tutte le colonne)	Mostra tutte le colonne.
Columns... (Colonne)	Apre una finestra di dialogo che consente di nascondere, mostrare e riordinare le colonne.
Column Width... (Larghezza colonna)	Apre una finestra di dialogo che consente di ridimensionare la colonna selezionata.

Sort by Event (Ordina per evento)	Ordina la tabella in base alla colonna *Category* (Categoria) (ascendente).
Sort (Ordina)	Ordina la tabella in base alla colonna selezionata.
Filter... (Filtro)	Apre la finestra di dialogo *Filter Events* (Filtra eventi) che consente di nascondere le voci della tabella che soddisfano i criteri specificati. Un filtro, per esempio, può nascondere tutti gli eventi non critici.
Find... (Trova)	Apre una casella di dialogo che consente di ricercare una stringa nella tabella.
Export... (Esporta)	Apre una finestra di dialogo che consente di esportare la tabella del registro di sistema (o di parte di essa) come file .html o .txt.

Barra degli strumenti

La finestra *System Log Viewer* (Visualizzatore del registro di sistema) fornisce una barra degli strumenti che funziona allo stesso modo della barra degli strumenti *Log Book* (Registro), vedere la sezione "Contesto Data and Assay (Dati e analisi) - Barra degli strumenti Log Book (Registro)" a pagina 448.

Collegamenti ed azioni del mouse

I dati ed i comandi possono essere inseriti utilizzando la tastiera o il mouse.

- Collegamenti possono essere utilizzati per inserire i comandi velocemente utilizzando la tastiera.
- Le azioni del mouse sono necessarie per effettuare selezioni dei comandi di un menu, per premere dei pulsanti ecc.

Collegamenti

È possibile utilizzare i collegamenti standard di Windows® come ad esempio Ctrl+C, oltre a collegamenti specifici dell'applicazione 2100 expert.

Collegamenti standard di Windows®

Premere e tenere premuto il tasto CTRL premendo un altro tasto:

Collegamento	Funzione
`Ctrl+o`	Apre la finestra di dialogo *Open* (Apri) che consente di caricare file di dati.
`Ctrl+s`	Salva il file attuale.
`Ctrl+p`	Apre la casella di dialogo *Print* (Stampa), che consente di impostare le opzioni di stampa ed inviare i dati alla stampante.
`Ctrl+c`	Copia la selezione (dati o grafico) negli appunti.

Collegamento	Funzione
Ctrl+x	Taglia la selezione (dati o grafico) e la mette negli appunti.
Ctrl+v	Incolla il contenuto degli appunti (dati o grafico) nella posizione del cursore.

Collegamenti con ALT

Premere e tenere premuto il tasto ALT premendo un altro tasto:

Collegamento	Funzione
Alt+f	Apre il *Menu File*.
Alt+c	Apre il *Menu Context (Contesto)*.
Alt+v	Apre il *Menu View (Visualizza)*.
Alt+a	Apre il *Menu Assays (Analisi)*.
Alt+t	Apre il *Menu Instruments (Strumenti)*.
Alt+w	Apre il *Menu Windows (Finestre)*.
Alt+h	Apre il *Menu Help (Guida in linea)*.
Alt+F4	Chiude l'applicazione 2100 expert.

Tasti funzione

Si tratta dei tasti funzione situati nella parte alta della tastiera (F1 – F12).

Collegamento	Funzione
F1	Apre l'argomento della Guida in linea relativo all'azione corrente.

Tasti freccia

I tasti freccia sono situati alla sinistra del tastierino numerico della tastiera del computer.

Collegamento	Funzione
→	Sposta il centro d'interesse a destra, oppure passa alla scheda successiva.
←	Sposta il centro d'interesse a sinistra, oppure passa alla scheda precedente.
↑	Sposta il centro d'interesse verso l'alto, per esempio nel *Pannello della struttura ad albero*.
↓	Sposta il centro d'interesse verso il basso, per esempio nel *Pannello della struttura ad albero*.
Tab	Sposta il centro d'interesse al soggetto successivo, per esempio alla cella successiva di una tabella dei risultati.

Azioni del mouse

Il mouse consente un utilizzo efficace dell'interfaccia grafica di 2100 expert.

Left-click (Clic con il pulsante sinistro)	**Risultato**
Sul *Barre degli strumenti*	Attiva le funzioni associate al pulsante.
Sul *Pannello della struttura ad albero*	Contesto *Data and Assays* (Dati e analisi)*:* seleziona un file, o passa alla visualizzazione a griglia (*All Samples*), o singola di un elettroferogramma, un'immagine gel-simile, un istogramma o un dot-plot. Contesto *Instrument* (Strumento): Contesto strumento: seleziona un bioanalizzatore o passa alla visualizzazione a griglia (*All Instruments*).
Sul *Pannello inferiore* (icona del chip o piccola immagine gel-simile)	Seleziona un campione e visualizza il suo elettroferogramma, immagine gel-simile, istogramma o dot-plot.
In *Grid View* (Visualizzazione a griglia)	Contesto *Data and Assays* (Dati e analisi): seleziona un elettroferogramma, un istogramma (rosso o blu) o un dot-plot. Contesto *Instrument* (Strumento): seleziona uno strumento.

Left-click (Clic con il pulsante sinistro)	**Risultato**
In *Single View* (Visualizzazione singola)	Istogrammi: seleziona un marker. Dot Plot seleziona un marker. Sul lato sinistro della finestra di elettroferogrammi e immagini gel-simile: mostra/nasconde il navigatore delle impostazioni. Gel View (Visualizzazione gel) seleziona un campione.
Nelle tabelle (tabella dei picchi, tabella dei frammenti, ecc.)	Seleziona una cella della tabella.
Sul navigatore delle impostazioni	Seleziona un'impostazione.

Doppio clic	Risultato
In *Single View* (Visualizzazione singola)	Sui marker degli istogrammi apre la finestra di dialogo *Configure Marker (Configura marker)*.
	Sul bordo delle aree di un dot-plot: apre la finestra di dialogo *Configure Region (Configura area)*.
	Su immagini gel-simile, elettroferogrammi, istogrammi e dot plot: annulla l'ultima azione di zoom.
In *Grid View* (Visualizzazione a griglia)	Visualizza strumento, elettroferogramma, istogramma o dot plot in formato singolo.
Sul navigatore delle impostazioni	Sul valore: passa alla modalità di modifica (se l'impostazione può essere modificata).
Sulla *Barra del titolo*	Massimizza/ristabilisce le dimensioni della finestra dell'applicazione.

Clic con il pulsante destro	Risultato
Sul *Pannello della struttura ad albero*	Contesto *Data and Assays* (Dati e analisi): seleziona un file o un campione ed apre un menu del contesto che consente di salvare, chiudere o stampare il file. Contesto *Instrument* (Strumento): seleziona un bioanalizzatore o passa alla visualizzazione a griglia (*All Instruments*). Contesto *confronto.* aggiunge o rimuove il campione selezionato da un file di confronto.
In *Grid View* (Visualizzazione a griglia)	Contesto *Data and Assays* (Dati e analisi): seleziona un campione. Elettroferogrammi: visualizza un menu del contesto con diverse voci per la valutazione e la modifica del campione selezionato. Istogrammi: seleziona l'istogramma blu o rosso. Contesto *Instrument* (Strumento): seleziona un bioanalizzatore ed apre un menu del contesto che fornisce funzioni per la visualizzazione del grafico.
In *Single View* (Visualizzazione singola)	Elettroferogrammi, visualizzazioni gel, istogrammi e dot-plot: visualizza un menu del contesto con diverse voci per la valutazione e la modifica.

Clic con il pulsante destro	Risultato
Sulla *Barra del titolo*	Apre un menu del contesto per ridimensionare la finestra e per chiudere l'applicazione.
Nelle tabelle (tabella dei picchi, tabella dei frammenti, ecc.)	Apre un menu del contesto per l'esportazione dei dati e la personalizzazione della tabella.

Trascinamento	Risultato
In *Single View* (Visualizzazione singola)	Esegue lo zoom avanti sul grafico. Negli elettroferogrammi sono possibili anche operazioni di panoramica e modifica della scala. Istogrammi: il puntatore del mouse diventa una mano indicatrice che consente di spostare orizzontalmente il marker. Dot Plot: negli angoli dell'area, il puntatore del mouse diventa una doppia freccia che consente di ingrandire o ridurre l'area.

Trascinamento	Risultato
In *Grid View* (Visualizzazione a griglia)	Contesto *Data and Assays* (Dati e analisi): esegue lo zoom dell'elettroferogramma. Sono anche possibili operazioni di panoramica e modifica della scala. Contesto *Instrument* (Strumento): segue lo zoom avanti sul grafico.
Nelle tabelle (tabella dei picchi, tabella dei frammenti, ecc.)	Sulle celle della tabella: seleziona celle multiple. Sulle intestazioni delle colonne: sposta le colonne della tabella.

Prodotti, parti di ricambio ed accessori

Per acquistare i seguenti prodotti, parti di ricambio e accessori per il Bioanalizzatore Agilent 2100, visitare Agilent Online Store:

http://www.agilent.com/home/buyonline.html

Pacchetti

- G2940CA – Bioanalizzatore Agilent 2100 per desktop

  Comprende il Bioanalizzatore Agilent 2100, un PC Compaq desktop, una stampante a colori, il software di sistema, l'agitatore vortex ed i relativi accessori. Cartuccia e licenza devono essere acquistate a parte.

- G2943CA – Bioanalizzatore Agilent 2100 per computer portatili

  Comprende il Bioanalizzatore Agilent 2100, un PC portatile Compaq, una stampante a colori, il software di sistema, l'agitatore vortex ed i relativi accessori. Cartuccia e licenza devono essere acquistate a parte.

Hardware

- G2938C – Bioanalizzatore Agilent 2100

  Comprende 1 stazione di priming del chip, 1 kit di chip test ed il *Manuale d'installazione e sicurezza*. Cartuccia e licenza devono essere acquistate a parte.

- G2947CA – Bioanalizzatore Agilent 2100 set per elettroforesi

  Comprende il kit di chip test, una cartuccia ad elettrodo, la chiave di licenza per analisi elettroforetica ed assistenza per l'avvio.

- G2948CA – Bioanalizzatore Agilent 2100 set per citometria a flusso

  Comprende il kit di chip test, una cartuccia ad elettrodo, la chiave di licenza per analisi elettroforetica ed assistenza per l'avvio.

Assistenza e software

- G2946CA – Aggiornamento software 2100 Expert Agilent

  Pacchetto software per l'aggiornamento all'ultima revisione del software per il Bioanalizzatore Agilent 2100.

- R1015A – Bioanalizzatore Agilent 2100 IQ

  Verifica che il software e l'hardware siano completi e correttamente installati e che tutte le connessioni elettriche siano corrette.

- R1016A – Bioanalizzatore Agilent 2100 OQ/PV

  Verifica che il software e l'hardware funzionino in base alle specifiche operative dell'ambiente selezionato.

  Opzione 001 – Per una seconda cartuccia, sullo stesso strumento

  Opzione 002 – Per un secondo strumento, utilizzando lo stesso PC

- R1011A – Assistenza operativa analisi DNA/RNA

  Corso avanzato di 1 giorno sulle applicazioni relative alle analisi di DNA o RNA.

- R1012A – Assistenza operativa sull'analisi delle proteine

  Corso avanzato di 1 giorno sulle applicazioni relative alle analisi delle proteine.
- R1013A – Assistenza operativa sull'analisi cellulare

  Corso avanzato di 1 giorno sulle applicazioni relative all'analisi cellulare.

Parti di ricambio ed accessori

- 5065-4413 – Cartuccia ad elettrodo
- 5065-4492 – Cartuccia a pressione
- 5065-4478 – Kit adattatore per pressione

  Contiene 5 adattatori in plastica ed 1 anello di montaggio da utilizzare con la cartuccia a pressione.
- G2938-68100 – Test chip kit per analisi elettroforetica

  Comprende 1 focalizzatore automatico, 1 Elettrodo/Diodo, e 5 pinze per dispersione di corrente.
- G2938-68200 – Kit di chip test per analisi citometrica a flusso

  Comprende un chip di focalizzazione automatica delle cellule.
- G2938-81605 – Cavo RS 232

  Cavo di comunicazione PC - strumento
- 2110-0007 – Fusibile

  Per il bioanalizzatore G2938C sono necessari due fusibili d'alimentazione.
- G2938-81610 – Cavo multiporta per scheda rocketport

- 5042-1398 – Pinza regolabile per utilizzo con siringhe luer lock
- 5065-4401 – Stazione di priming del chip comprendente kit di guarnizioni e pinza regolabile
- G2938-68716 – Kit di guarnizioni

  Comprende le parti di ricambio per la stazione di priming del chip: 1 adattatore di plastica, 1 anello e 10 guarnizioni.
- 5065-4428 – Agitatore Vortex IKA (115V)

  Rivolgersi a IKA per le ordinazioni.
- 5065-4429 – Agitatore Vortex IKA (230V)

  Rivolgersi a IKA per le ordinazioni.
- 5022-2190 – Adattatore Vortex Mixer per agitatori Vortex IKA
- 5065-9951 – Set per la pulizia dell'elettrodo

  Contiene 7 pulitori per gli elettrodi.
- G2938-90300 – Raccoglitore con tutte le informazioni per l'utente del Bioanalizzatore Agilent 2100

  Contiene tutte le 8 *Guide dei kit di reagente.*
- G2946-60002 – CD-ROM: come utilizzare il Bioanalizzatore Agilent 2100

  Contiene video che mostrano la preparazione del chip e la manutenzione dell'hardware.

Glossario

Questo glossario descrive la terminologia utilizzata nel contesto dell'analisi citometrica a flusso e dell'analisi elettroforetica e descrive i termini specifici dell'hardware e del software del bioanalizzatore Agilent 2100.

A

Altezza del picco

Il valore del punto centrale del picco meno il valore di partenza della linea di base locale.

Altezza minima del picco

Il valore dell'altezza minima del picco determina se un picco deve essere considerato o no. Per ogni picco, la differenza tra il valore del punto d'inizio ed il valore del punto centrale deve essere maggiore del valore dell'altezza minima del picco.

Questa impostazione viene selezionata sul navigatore delle impostazioni.

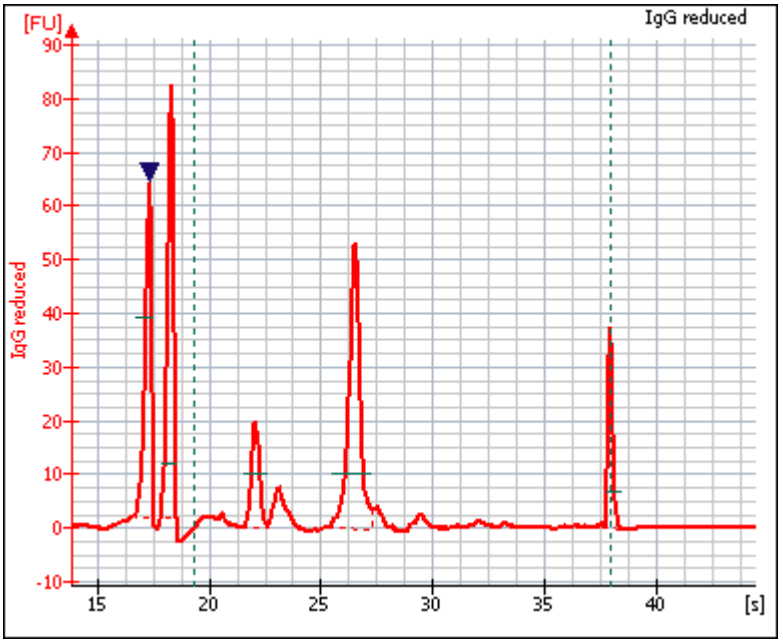
Ampiezza del filtro

Questa impostazione determina l'ampiezza della polinomiale (in secondi) da applicare ai dati come filtro (riduzione del rumore). L'ampiezza predefinita dipende dal tipo di analisi selezionato. Questa impostazione deve essere inferiore al doppio dell'ampiezza dei picchi

d'interesse, altrimenti i picchi saranno distorti. I picchi distorti dal picco presentano picchi positivi e negativi su entrambi i lati. Per vedere un esempio di questa distorsione, aumentare l'ampiezza del filtro a 5.

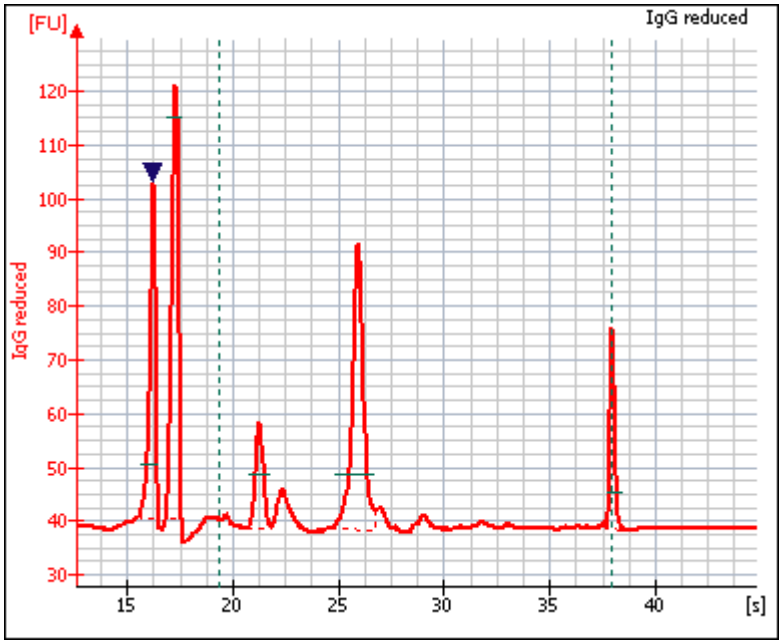
Azzeramento della linea di base

Tutti gli elettroferogrammi prodotti con il bioanalizzatore mostrano una certa quantità di fluorescenza di fondo. Per predefinizione, il software *2100 expert* consente di abilitare la funzione di azzeramento della linea di base. L'abilitazione di questa impostazione modifica i grafici visualizzati per ogni singolo pozzetto ma non influenza l'analisi. Come valore zero della linea di base si utilizza il valore medio di 100 punti prima del tempo della linea di base (derivato dal calcolo del rumore di fondo).



Azzeramento della linea di base

Per rimuovere l'azzeramento, disabilitare la casella *Zero Baseline* (Azzera linea di base) sul navigatore delle impostazioni (calcolo della linea di base sotto le impostazioni *Global* (Globale) e *Advanced* (Avanzata).



Linea di base senza azzeramento

B

Bolle d'aria

Se durante l'erogazione, il puntale della pipetta non è posizionato sul fondo del pozzetto, possono formarsi delle bolle d'aria (e talvolta le bolle d'aria si formano anche se si presta molta attenzione). Il passaggio che prevede l'agitazione su vortex dopo che il campione è stato caricato nel chip, ha lo scopo di liberare i pozzetti dalle bolle ed è generalmente molto efficace.

Quando si nota la presenza di una bolla d'aria sul fondo di un pozzetto, rimuovere il campione dal pozzetto, ripipettarlo di nuovo nel pozzetto e continuare con la procedura di caricamento.

C

Citometria a flusso

Un metodo per rilevare la presenza di cellule con una determinata proprietà. In un flusso continuo le cellule colorate passano attraverso un raggio di luce. La fluorescenza emessa viene utilizzata per il conteggio e la differenziazione.

Curva standard

La curva standard si ottiene riportando in grafico la dimensione dei picchi dello standard rispetto al tempo, utilizzando un fit punto a punto. Per ogni picco del campione, il tempo centrale viene interpolato dalla curva standard per determinare la dimensione del picco nelle coppie di basi.

D

Descrizione comandi

Una piccola casella contenente del testo che descrive l'oggetto indicato dal puntatore del mouse. Per vedere la descrizione dei comandi, posizionare il puntatore del mouse su un oggetto dello schermo. Lasciare fermo il puntatore per alcuni istanti ed apparirà la descrizione del comando (se esiste per quell'oggetto)

E

Elettroforesi

Tecnica elettroforetica standard per la separazione delle molecole sulla base della loro mobilità (rapporto carica/massa). Viene applicato un potenziale attraverso un capillare, immerso in un mezzo fluido, contenente il campione. Le molecole con carica positiva migrano verso il catodo mentre le molecole con carica negativa migrano verso l'anodo a velocità differenti, in base alla loro mobilità elettroforetica.

F

File ASY

In *Bio Sizing* le analisi elettroforetiche venivano salvate come file .asy. 2100 expert è in grado d'importare i file .asy. Vedere anche File XSY.

File BMP

BMP è il formato standard di Windows per le immagini. Il formato BMP supporta le modalità di colore RGB, colore indicizzato, scala di grigi e bitmap.

File CAD

Nel chip per l'analisi citometrica a flusso di *fluorescenza cellulare* , le analisi vengono salvate come file .cad. 2100 expert è in grado d'importare i file .cad. Vedere anche File XAD.

File CLD

In *Bio Sizing* le analisi del chip elettroforetico venivano salvate come file .cld. 2100 expert è in grado d'importare i file .cld. Vedere anche File XAD.

File CSV

File variabile separato da virgola. La forma di file più semplice per la memorizzazione dei dati. I dati vengono elencati nelle colonne di un file di testo, ogni valore separato da una virgola. Ogni nuova linea rappresenta una nuova serie di dati. È possibile importare ed esportare i file in Microsoft Excel.

File CSY

In *Cell Fluorescence* , le analisi citometriche a flusso venivano salvate come file .csy. 2100 expert è in grado d'importare i file .csy. Vedere anche File XSY.

File GIF

Graphics Interchange Format, GIF è un formato di file grafici che utilizza uno schema di compressione sviluppato originariamente da CompuServe. Dato che i file GIF sono compressi, possono essere trasmessi facilmente e velocemente tramite rete. Questo spiega perché il formato GIF è il formato grafico più comunemente utilizzato in Internet.

File HTML

HTML (Hyper Text Markup Language) è il linguaggio di authoring utilizzato per creare i documenti in Internet. L'HTML definisce la struttura della pagina, i caratteri, gli elementi grafici ed i collegamenti ipertestuali verso altri documenti presenti sul web.

File JPG

Joint Photographic Experts Group Image File. Un file JPEG è un'immagine bitmap o a trama compressa. Quando si crea un file JPEG, occorre tenere in considerazione un range di qualità di compressione. La compressione JPEG è un processo in perdita, cioè significa che occorre sacrificare la qualità per la dimensione del file in modo maggiore al crescere della compressione (la qualità d'immagine più elevata risulta nei file di dimensioni maggiori). Mentre le immagini in formato GIF sono limitate a 256 colori (8-bit), le immagini in formato JPEG possono contenere milioni di colori (24-bit) oltre ad informazioni aggiuntive compresi i percorsi di clipping PostScript.

File PDF

Il PDF (Portable Document Format) è un formato creato dalla Adobe System Incorporated che preserva tutte le fonti, le formattazioni, i colori ed i grafici di qualsiasi documento d'origine indipendentemente dal software e dalla piattaforma utilizzati per crearlo.

File TIF

Un'estensione di file che indica una serie di formati grafici bitmap. I file TIF vengono comunemente usati nei lavori di DTP per il loro supporto alla specificazione dei colori.

File WAV

Un tipo di file utilizzato dal computer per memorizzare un suono in forma digitale.

File XAC

File di confronto di 2100 expert.

File XAD

File di dati del chip di 2100 expert. I file contengono dati grezzi, informazioni sull'analisi, impostazioni dei dati d'analisi, informazioni su chip, campione e studio oltre alle informazioni sul registro d'analisi.

File XLS

File del foglio elettronico Microsoft Excel

File XML

Extensible Markup Language files. XML significa Extensible Markup Language, un sistema per la definizione di linguaggi di markup che vengono utilizzati per trasmettere dati formattati. L'XML è concettualmente collegato all'HTML, ma l'XML non è di per se stesso un linguaggio di markup. Si tratta piuttosto di un metalinguaggio, un linguaggio utilizzato per creare altri linguaggi specializzati.

2100 expert utilizza il formato XML per:

- Esportare i dati del chip.
- Salvare e caricare le regole di evidenziazione dei risultati.

File XSY

2100 expert file d'analisi. I file contengono le proprietà dell'analisi, le impostazioni di acquisizione dei dati ed informazioni su chip, campione e studio.

File XVD

File dei risultati di validazione di 2100 expert. I file contengono i risultati dei test di qualificazione relativi all'hardware ed al software del bioanalizzatore. I file xvd. vengono memorizzati nella sottocartella "..\validation" della cartella d'installazione del 2100 expert. Per ogni test di validazione, viene generato un file .xvd.

Nel nome del file vengono inclusi data e ora di esecuzione del test di validazione. Esempio: "Validation_25-09-2003_10-28-40".

Filtro dati

La prima operazione che *2100 expert* esegue nell'analisi dei dati grezzi è l'applicazione del filtro. La filtrazione dei dati agisce per mezzo di un "filtro" polinomiale che viene applicato ai dati grezzi. L'impostazione dell'ordine polinomiale sul navigatore delle impostazioni determina la quantità di dati da applicare: minore è il numero e più saranno i dati applicati e maggiore è la filtrazione che avviene.

Filtro polinomiale

La prima operazione che *2100 expert* esegue nell'analisi dei dati grezzi è l'applicazione del filtro. La filtrazione dei dati agisce per mezzo di un "filtro" polinomiale che viene applicato ai dati grezzi.

Firmware

Il firmware è un programma che controlla l'hardware del bioanalizzatore Agilent 2100. Viene scaricato dal computer al bioanalizzatore Agilent 2100 e controlla, tra le altre cose, il trasferimento dei dati o le procedure di analisi.

Fit punto a punto

Questo fit della curva è composto di segmenti di linea che congiungono ogni coppia di punti dei dati e vengono utilizzati per interpolare i dati compresi tra questi punti.

Flow Cytometry Standard—FCS

Il formato FCS è lo standard utilizzato nella citometria a flusso per scambiare dati tra diverse applicazioni.

Flusso elettroforetico

Un fenomeno macroscopico risultante da un doppio strato elettrico formato dagli ioni del fluido e dalle cariche elettriche superficiali immobilizzate sulle pareti del capillare. Quando viene applicato un campo elettrico, la soluzione sfusa si muove verso uno degli elettrodi (catodo). Gli elettrodi risiedono nel serbatoio che connette alla parte terminale dei vari capillari. I potenziali degli elettrodi vengono applicati ai diversi serbatoi per tempi diversi per spostare il fluido nella direzione richiesta. I canali riempiti di gel del dispositivo LabChip non presentano un flusso determinabile a causa del rivestimento dinamico del canale e della viscosità della matrice polimerica.

Flusso elettroosmotico

Un fenomeno risultante da un doppio strato elettrico formato dagli ioni di un fluido e dalle cariche elettriche superficiali immobilizzate sulle pareti del capillare. Quando viene applicato un campo elettrico, la soluzione sfusa si muove verso uno degli elettrodi. Questo fenomeno può essere utilizzato per spostare i fluidi all'interno di microcanali.

Forze elettrocinetiche

Le forze elettrocinetiche vengono utilizzate per spostare, invertire e separare i campioni. Il controllo attivo sui gradienti di voltaggio dirige il movimento dei materiali utilizzando il fenomeno del flusso elettroforetico.

I

Istogramma

Gli istogrammi sono grafici a barre utilizzati per visualizzare, ad esempio, una distribuzione di frequenza.

L

Lab-on-a-chip (Laboratorio su chip)

Termine generico utilizzato per i prodotti microfluidici, con cui si intende un processo chimico o uno spostamento di materiali che avviene in un microchip. In contrasto con le analisi eseguite in un laboratorio standard che si affida all'intervento umano in diversi stadi per la manipolazione o l'osservazione del campione e per la registrazione dei risultati, il lab-on-a-chip è completamente autonomo e rappresenta una tecnologia in cui l'intervento umano è ridotto al minimo.

La tecnologia lab-on-a-chip riporta alle dimensioni di un chip le tecniche del laboratorio analitico standard:

- Utilizzando tecniche come l'elettroforesi, la cromatografia ed i setacci.
- Mediante rivelatori a fluorescenza, assorbanza e MS.

- Con un alto grado di automazione, integrando i passaggi multipli di un protocollo complesso in un sistema miniaturizzato.

Virtualmente qualsiasi test biochimico che può essere effettuato in laboratorio potrebbe, in teoria, essere effettuato in un chip.

Laboratori miniaturizzati su microchip

Espressione utilizzata per descrivere la tecnologia lab-on-a-chip.

Larghezza minima del picco

Il valore della larghezza minima del picco determina se un picco deve essere considerato o no. Per ogni picco la differenza in larghezza tra il valore del punto iniziale ed il valore del punto centrale deve essere maggiore del valore della larghezza minima del picco perché il software possa determinare che è stato rilevato un picco e che il cambiamento nel segnale non è dovuto ad un disturbo elettrico o ad un rumore di fondo.

Limite di pendenza

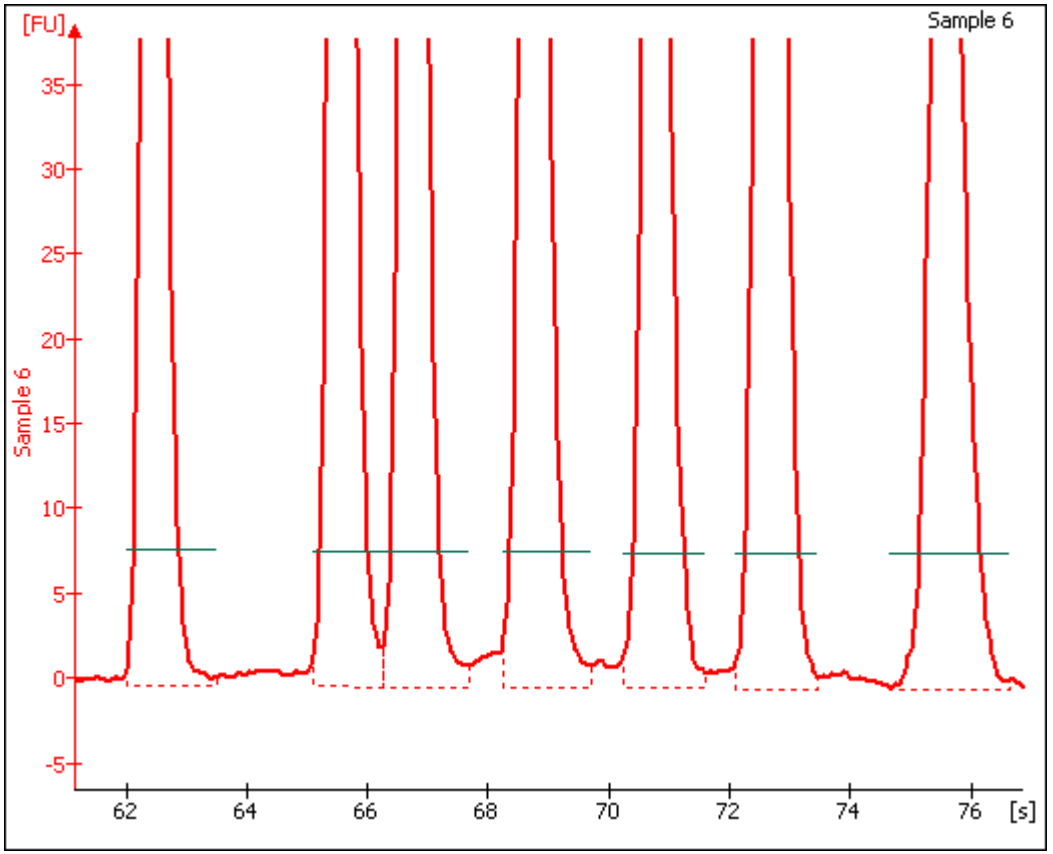
L'impostazione del limite di pendenza rappresenta l'ammontare del cambiamento delle unità fluorescenti nel tempo richiesto per indicare che si è verificato un picco.
La modifica di questa impostazione può far sì che alcuni picchi che erano stati precedentemente rilevati vengano ora ignorati. L'impostazione del limite di pendenza è uno dei parametri definibili dall'utente sul navigatore delle impostazioni.

Linea di base

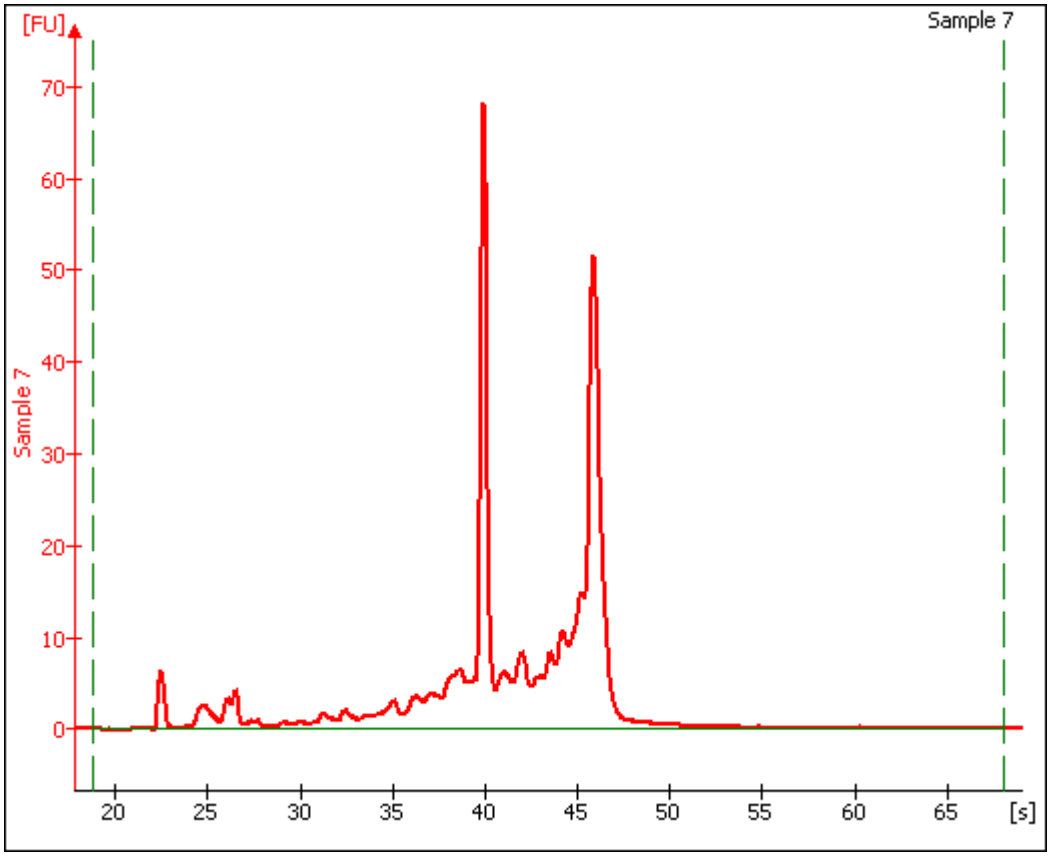
Viene stabilita una linea di base subito dopo il setpoint del tempo del primo picco. Dopo il calcolo della linea di base generale, viene calcolata una linea di base locale per ogni picco, per compensare le deviazioni della linea di base.

Per i picchi isolati, la linea di base locale è costituita semplicemente da una linea retta che collega il punto d'inizio del picco con il punto finale. Per picchi molto vicini, quando il valore tra i picchi non ritorna alla linea di base reale, si utilizza una linea di base media.

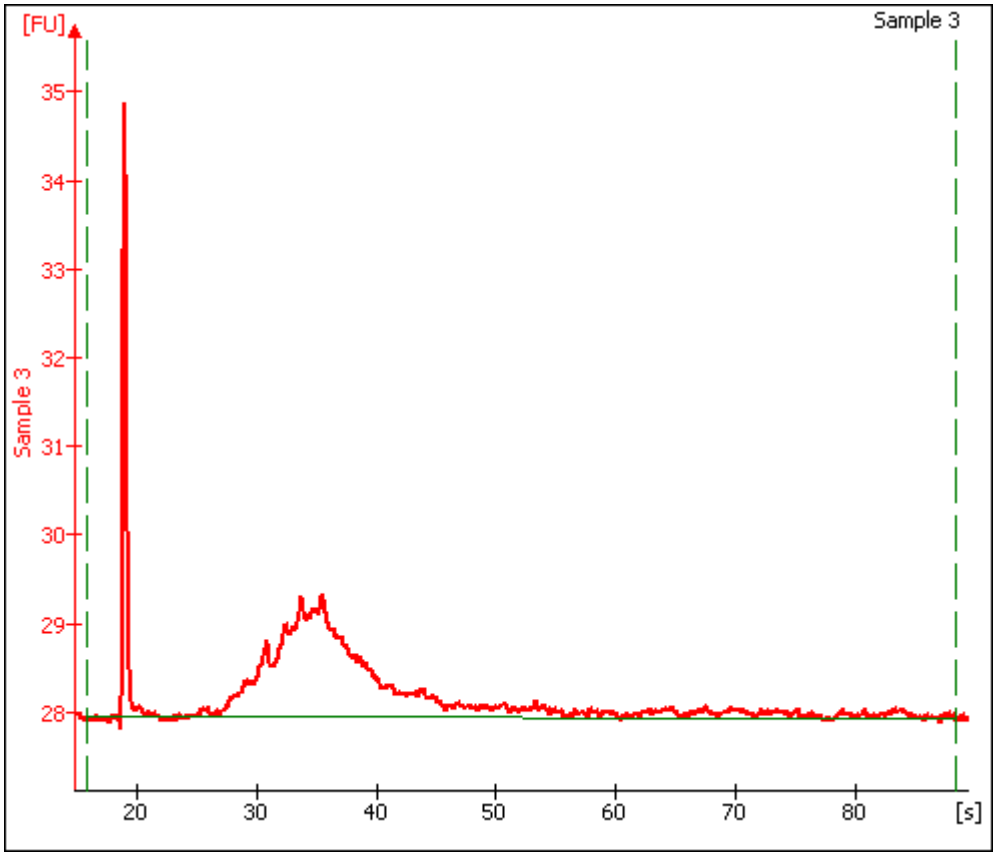
La figura seguente mostra le linee di base stabilite per i picchi relativi all'analisi del DNA. I picchi delle analisi del DNA e delle proteine vengono determinati picco per picco (viene mostrata la linea di base generale).



La figura seguente mostra le linee di base stabilite per i picchi relativi all'analisi dei frammenti di RNA totale. I frammenti di RNA vengono determinati picco per picco, mentre viene mostrata una linea di base che va dal tempo iniziale al tempo finale.



La figura seguente mostra le linee di base stabilite per i picchi relativi all'analisi del mRNA. I frammenti di mRNA vengono determinati picco per picco, mentre viene mostrata una linea di base che va dal tempo iniziale al tempo finale.

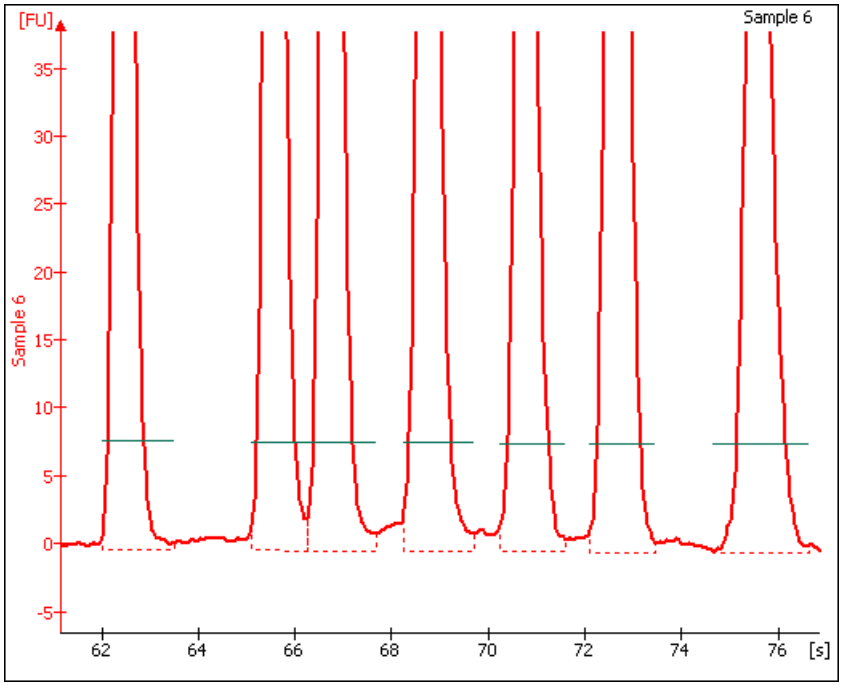


NOTA

Nelle analisi del RNA, le linee che segnano il punto d'inizio e di fine possono essere spostate (indicati dalle linee verticali verdi tratteggiate) in modo da regolare l'intera linea di base per il calcolo dell'area del campione totale.

Linea di base del picco

Per ogni picco viene calcolata una linea di base locale. Per quanto riguarda i picchi isolati, la linea di base locale è costituita semplicemente da una linea retta che collega il punto d'inizio del picco con il punto finale. Per picchi molto vicini, quando il valore tra i picchi non ritorna alla linea di base reale, si utilizza una linea di base media.



M

Marker inferiore

Uno standard interno che viene aggiunto ad un campione in un pozzetto per aiutare nella determinazione delle dimensioni del campione. Il marker inferiore corrisponde al primo picco trovato nello standard del DNA.

Marker superiore

Uno standard interno che viene aggiunto ad un campione di DNA o proteina presente in un pozzetto per aiutare nella determinazione delle dimensioni del campione. Il marker superiore corrisponde all'ultimo picco trovato nello standard per il dimensionamento.

Microfluidicità

Il movimento di liquidi attraverso strutture di dimensioni micro per mezzo di campi elettrici o pressione/vuoto che forniscono una maggiore funzionalità con affidabilità significativamente aumentata:

- Piccoli dispositivi in plastica o vetro con micro canali come piattaforme sperimentali.
- Controllo attivo dei fluidi senza spostamento delle parti sul chip attraverso l'impiego di elettrodi miniaturizzati o pompe controllate da script software.
- Emulazione di pompe per liquidi, valvole, dispensatori, reattori, sistemi di separazione, ecc. di tipo convenzionale.
- Capacità di trasferimento, separazione, diluizione, reazione ed altro, dei liquidi.

Molarità

$$Molarity = \frac{Concentration * 10^6}{660 * Size} \left[\frac{nmol}{l}\right]$$

Dove:

La *molarità* viene misurata in nanomoli per litro (nmoli/l).

La *concentrazione* viene misurata in nanogrammi per microlitro (ng/µl).

La *dimensione* viene misurata in coppie di basi (bp).

$660 \left[\frac{g}{mol * bp}\right]$ è il peso molecolare di una singola coppia di basi.

P

Plateau linea di base

Questa impostazione (disponibile sul navigatore delle impostazioni) rifiuta le aree piccole e a scarsa pendenza in prossimità dei picchi o tra picchi non risolti alla linea di base. Il ritorno del segnale alla linea di base viene riconosciuto ogni volta che la pendenza dei dati è inferiore allo Slope Threshold (Limite di pendenza) impostato (sia positivo che negativo) per un tempo più lungo di quello impostato per il plateau della linea di base.

Porta COM

Vedere Porta seriale.

Porta seriale

Le porte seriali (porte COM) vengono utilizzate per collegare il computer con il bioanalizzatore Agilent 2100. Il numero di porte disponibili dipende dal computer utilizzato.

Pulizia dell'elettrodo

Dopo aver completato un'analisi occorre effettuare la pulizia degli elettrodi. La procedura di pulizia è leggermente diversa in base al tipo di analisi che è appena stato effettuato (DNA o RNA).

Il dispositivo per la pulizia dell'elettrodo ha l'aspetto di un chip, solo che è vuoto. Con le analisi dell'RNA occorre utilizzare due diversi dispositivi per la pulizia: uno per la pulizia generale utilizzando acqua priva di RNAse ed un altro per la decontaminazione utilizzando RNAseZAP. Si consiglia di marcare i dispositivi di pulizia dell'elettrodo con un pennarello indelebile per evitare di scambiarli.

Punti di dati

I punti di dati sono distanti 0,05 secondi uno dall'altro.

Show Data Points (Mostra punti di dati) è un'opzione che abilita la visualizzazione dei punti di dati utilizzati per generare il grafico.

Punto centrale

Dopo aver individuato un punto di partenza, l'algoritmo di ricerca dei picchi ricerca il primo valore di pendenza negativa e salva il punto precedente come centro. Se il valore del punto centrale è inferiore all'altezza minima del picco impostata, l'algoritmo procede a ricercare un nuovo picco.

Punto d'inizio

L'algoritmo di ricerca del picco percorre i dati dal punto zero ricercando una pendenza superiore al limite di pendenza. Questo viene considerato il punto iniziale di un picco.

Nelle analisi RNA i singoli tempi finali dei picchi possono essere spostati manualmente trascinando i rombi che appaiono sulla visualizzazione singola del pozzetto.

Punto finale

L'algoritmo di ricerca dei picchi cerca uno scostamento quando il valore della pendenza è inferiore al valore impostato come limite di pendenza. Questo viene considerato il punto finale del picco.

Nelle analisi RNA i singoli tempi finali dei picchi possono essere spostati manualmente trascinando i rombi che appaiono sulla visualizzazione singola del pozzetto.

S

Standard

Ogni kit di reagenti per LabChip elettroforetico contiene uno standard. Uno standard contiene frammenti di DNA e RNA o proteine di dimensioni e concentrazioni note.

Un pozzetto per lo standard è situato nell'angolo inferiore destro del chip. Lo standard viene analizzato prima di effettuare l'analisi del campione.

Le dimensioni dei picchi ed i marker definiti per lo standard vengono assegnati consecutivamente, partendo dal primo picco rilevato nello standard. I picchi che appaiono oltre il marker superiore non devono essere rilevati. La tabella dei picchi relativa al pozzetto dello standard mostra la dimensione e la concentrazione dei picchi.

Stazione di priming

È costituita da un sostegno per i chip dotato di una siringa montata sul coperchio, che sigilla il chip. La siringa viene utilizzata per spingere la soluzione tampone caricata nel pozzetto indicato con la lettera "G" cerchiata, in tutti i passaggi all'interno del chip prima di analizzarlo nel bioanalizzatore.



T

Tecniche di separazione molecolare

Processi come l'elettroforesi su gel, la cromatografia liquida e l'elettroforesi capillare in grado di separare le sostanze organiche bimolecolari da altri composti.

Tempo iniziale

Questa impostazione determina il tempo dopo cui apparirà il primo picco o frammento (i picchi che compaiono prima di questo tempo vengono ignorati). Nelle analisi di RNA e proteine, il tempo iniziale viene mostrato nel display a visualizzazione singola sottoforma di una linea tratteggiata verde (si noti che questo è vero per le analisi delle proteine quando l'analisi è in corso; il tempo iniziale viene mostrato come una linea verde intera quando l'analisi è spenta per l'analisi delle proteine)

Per le analisi RNA, è disponibile un altro tempo iniziale che determina il tempo iniziale di ogni singolo picco. Nelle analisi RNA i singoli tempi finali dei picchi possono essere spostati manualmente trascinando i rombi che appaiono sulla visualizzazione singola del pozzetto.

Tempo finale

Questa impostazione determina il tempo successivo all'avvio di un'analisi entro cui sarà individuato l'ultimo picco o frammento (tutti i picchi che compaiono dopo questo tempo vengono ignorati). Nelle analisi RNA, il tempo finale appare sulla visualizzazione del singolo pozzetto come una linea verde tratteggiata.

Per le analisi RNA, è disponibile un'altra impostazione del tempo finale che controlla il tempo finale di ogni singolo picco. Inoltre, i tempi finali dei singoli picchi possono essere spostati manualmente trascinando i rombi che appaiono sulla visualizzazione singola.

W

WMF file

Windows Metafile. I metafile di Windows possono contenere informazioni su vettori e trama (o bitmap) per descrivere il contenuto di un immagine. I grafici WMF vengono utilizzati generalmente su piattaforma Windows come formato standard per clip art ed altre informazioni graficamente ricche come ad esempio i grafici.

Indice analitico

A
Accessori, 669
Aggiunta aree, 261
Agilent Online Store, 669
Allineamento, 153
Analisi
  apertura, 299
  Creazione nuova, 297
  Generica, 204
  interruzione, 86, 225
  predefinite, 202
Analisi apoptosi, 278
Analisi di smear, 134
Analisi GFP, 284
Annulla zoom, 99, 235
APC, 195
Apertura analisi, 299
Aree, 201
  aggiunta, 261
  configurazione, 264
  copia, 267
  dimensioni e posizione, 266
Auto Export (Esportazione automatica), 354, 596
Auto Print (Stampa automatica), 355, 596
Auto Run (Esecuzione automatica), 354
Avvio di un'analisi, 81, 220
Avviso sonoro, 348

B
Bolle d'aria, come evitarle, 216

C
Calceina, 194
Cartucce, 52
Cartuccia a pressione, 53
Cartuccia ad elettrodo, 53
CBNF, 195
Colorante fluorescente, 62
Coloranti, 194
Colorazione anticorpi, 272
Colorazione delle cellule, 194
Colorazione ed acquisizione immagini, 402, 435
Colore
  istogrammi sovrapposti, 256
CompuServe Graphics Interchange, 408, 438, 533

Configurazione marker, 248
Confronto di campioni, 169
Contesto
  definizione, 36
Contesto confronto, 169
Coppia di basi, 690
Copy (Copia)
  aree, 267
  marker, 251
Creazione nuova analisi, 297
Cromatografia liquida, 695
Cy5, 195

D
Dati
  specifica di nomi e directory dei file, 345
Dati grezzi, 292
Dimensione (bp), tabella dei risultati, 515
Documentazione correlata, 9
Documentazione, correlata, 9
Dot Plot
  generazione, 200

E
Elettrodi, 55, 57
Elettroforesi, 677
Elettroforesi capillare, 695
Elettroforesi su gel, 695
Errori, 524, 538
Esportazione
  automaticamente, 596
Evento, 197
Evidenziazione dei risultati, 179, 557
  definizione delle regole, 186
  regole d'importazione, 310
  regole di esportazione, 322
Excel, 520, 548

F
Fattibilità di transfezione siRNA, 203
FCS Express, 604
File di dati, 292
Filtri
  lavorare con, 268
Filtro, 240, 543
  direzione, 252
Flusso elettroforetico, 692
Flusso elettroosmotico, 682
Forze elettrocinetiche, 682

G
Gel Coomassie, 402, 435
GFP, 194
Guide dei kit di reagente, 9

I
Impostazioni, 294
Impostazioni analisi dei dati, 140, 294
Impostazioni d'analisi, 294

Impostazioni grafiche, 350
Inserimento dei picchi, 162
Inserimento marker, 246
Integrazione manuale, 156
Interruzione analisi, 86, 225
IQ, 365
Istogramma
  generazione, 198
  sovrapposizione, 253
Istogrammi sovrapposti, 350

J
JPEG, 401, 435, 514

L
Lab-on-a-chip, 683
Laboratori miniaturizzati su microchip, 691
Limite di memorizzazione, 354
Linea di base, 149
Linea di divisione, 531

M
Manuali del bioanalizzatore, 9
Marker, 239
  configurazione, 248
  copia, 251
  inserimento, 246
  limiti, 250
  rimozione, 247
Menu del contesto, 546, 554
Microcanali, 62
Microfluidicità, 689
Modalità a canale singolo, 93, 231
Modalità di disegno dell'area, 419, 445
Modalità multicanale, 93, 231
Molarità (nM), tabella dei risultati, 516
Mostra i punti di dati, 100, 236

N
Navigatore delle impostazioni, 140
Navigazione, 95, 232
Numero integrità RNA, 114
Numero picco, tabella dei risultati, 515

O
OQ, 365

P
Parti di ricambio, 669
Peso molecolare, 690
Pipettaggio inverso, 216
Prodotti, 669
Proteina verde fluorescente, 194, 284
Punti di dati, 97, 234

Q
Qualificazione dell'installazione, 365
Qualificazione funzionale, 365

R
Reagenti, 214
Reagenti per il chip, 214
Registro
  registro del sistema, 338
  registro di analisi, 337
Registro del sistema, 338
Registro di analisi, 337, 565
Restrizione enzimatica, 500
Rimozione dei picchi, 159
RIN, 114
Rivelazione delle cellule, 196

S
Scale (Scala)
  istogrammi sovrapposti, 256
Setaccio polimerico, 62
Setpoint Explorer (Navigatore delle impostazioni), 495
Sovrapponi istogrammi, 253
  colore e scala, 256
Stampa
  automaticamente, 596
Suono, 348
SYTO16, 194

T
Tabella aree, 136
Tabella risultati
  aree, 270
  valori istogramma, 257
Tagged Image File Format, 401, 435, 514
Tecniche di separazione molecolare, 691
Test per il bioanalizzatore, 356
Tipo di picco, 518
Tipo di ritorno, 560

W
Windows Bitmap, 401, 435, 514
Windows Metafile, 408, 438, 533

Z
Zoom
  Annulla, 99, 235
  Dot Plot, 97, 234
  istogramma, 97, 234